Н.Д. ОЗЕРНЮК, В.В. ИСАЕВА

ЭВОЛЮЦИЯ ОНТОГЕНЕЗА

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН
Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН
Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского
Национального научного центра морской биологии ДВО РАН

Н.Д. ОЗЕРНЮК, В.В. ИСАЕВА

ЭВОЛЮЦИЯ ОНТОГЕНЕЗА

Товарищество научных изданий КМК
Москва 2016

УДК 591.3

Н.Д. Озернюк, В.В. Исаева. Эволюция онтогенеза. М.: Тов-во научных изданий КМК. М.: 2016. 407 с.

Эволюция онтогенеза рассматривается как основная проблема эволюционной биологии развития, поскольку эволюционные преобразования организмов обусловлены изменениями их онтогенеза. Интеграция современных данных и гипотез эволюционной биологии развития, генетики развития и сравнительной геномики с классическими концепциями эволюции онтогенеза дает новые возможности для понимания механизмов преобразований индивидуального развития и различий эволюционной стратегии разных таксонов Metazoa. В монографии рассматриваются такие фундаментальные факторы эволюционных трансформаций индивидуального развития, как контроль пространственно-временнóй организации развивающегося зародыша генными регуляторными сетями, включающими *Hox*-гены, эпигенетическая регуляция процессов развития, возникновение новых клеточных ресурсов роста и развития, а также, роль гетерохроний и других классических механизмов эволюционных изменений. Обсуждаются геномно-морфогенетические корреляции, способствующие эволюционным преобразованиям онтогенеза Metazoa по типу ароморфоза либо идиоадаптаций.

87 илл.

Ответственный редактор: академик С.В. Рожнов
Рецензент: д.б.н., профессор Л.В. Белоусов

ISBN 978-5-9909296-6-1

Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences
A N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution
of the Russian Academy of Science
A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology, National Scientific Center
of Marine Biology, Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences

N.D. OZERNYUK, V.V. ISAEVA

EVOLUTION OF ONTOGENESIS

KMK Scientific Press
Moscow 2016

Ozernyuk N.D., Isaeva V.V. EVOLUTION OF ONTOGENESIS. Moscow: KMK Scientific Press. 2016. 407 p., 87 figs.

The evolution of ontogenesis is considered as the main problem of evolutionary developmental biology, because evolutionary transformations of organisms are due to changes in their ontogeny. Integration of contemporary data and hypotheses of evolutionary developmental biology, developmental genetics and comparative genomics with classical concepts of ontogenetic evolution gives new possibilities for understanding the mechanisms of evolutionary transformations of individual development and evolutionary strategies of different metazoan taxa. The book addresses such fundamental factors of evolutionary transformation of individual development, as a control of space-time organization of a developing embryo by gene regulatory networks, including the Hox-genes, epigenetic regulation of developmental processes, the emergence of new cell resources of growth and development, as well as the role of heterochronies and other classic mechanisms of evolutionary changes. Genome-morphogenetic correlations promoting evolutionary transformations of metazoan ontogenesis (aromorphoses and idioadaptations) are discussed.

Responsible Editor S.V. Rozhnov
Reviewer: L.V. Beloussov

ISBN 978-5-9909296-6-1

ВВЕДЕНИЕ

Посвящается 100-летию создания Института экспериментальной биологии (Кольцовского института)

Интеграция современных данных эволюционной биологии развития, молекулярной генетики и сравнительной геномики с классическими концепциями эволюции онтогенеза Metazoa дает новые возможности для понимания механизмов эволюционных преобразований индивидуального развития и эволюционной стратегии разных таксонов животного мира. В соответствии с теорией филэмбриогенеза А.Н. Северцова (1939), появление в ходе эволюции типов развития, включающих крупные изменения, можно считать ароморфными преобразованиями развития, в отличие от изменений развития по типу идиоадаптаций как частных приспособлений, не повышающих общий уровень организации. Основная задача авторов – анализ закономерностей и механизмов эволюционных изменений развития многоклеточных животных и выявление геномно-морфогенетических корреляций, что дает возможность разделения ароморфных и идиоадаптационных типов онтогенеза.

Эволюционные преобразования обусловлены гетерохрониями, гетеротопиями и аллометрией, обеспечивающими создание новых морфогенетических процессов в индивидуальном развитии и, как следствие, новых дефинитивных форм. Эти эволюционные механизмы, базирующиеся на изменениях генной регуляторной системы, представляют собой мощное средство для трансформаций онтогенеза. Важнейшую роль в эволюционных трансформациях онтогенеза играют гетерохронии – классический механизм изменения темпов и последовательности процессов развития, которые включают педоморфоз, представленный неотенией и прогенезом (De Beer, 1958; Gould, 1977; McNamara, 2002).

Данные палеонтологии, интегрированные с эволюционной биологией и генетикой развития, углубляют понимание эволюции онтогенеза. Взаимосвязь между палеонтологией и биологией развития основана на изучении эмбрионов и растущих животных из отложений позднего докембрия и раннего кембрия (Chen et al., 2000; Dong et al., 2004; Yin et al., 2004; Donoghue et al., 2015). При реконструкции эволюционной истории организмов используются также достижения сравнительной геномики, транскриптомики и протеомики. Палеобиология и сравнительная геномика – две основные документированные летописи жизни (Федонкин, 2006). Методы сравнительного анализа генома дают возможность построения филогенетической системы живого мира, «филогеномики», выявляя связи ныне живущих организмов и определяя относительное время расхождения эволюционных ветвей различного таксономического

ранга (молекулярные часы), тогда как палеонтологическая летопись, датированная радиометрическими методами, позволяет «калибровать» молекулярные часы (Федонкин, 2006; Benton, Harper, 2009).

Широко известный «кембрийский взрыв» в раннем палеозое привел к появлению разнообразных планов строения тела животных и основных типов современных форм, что предположительно было обусловлено перестройками генных регуляторных систем (Gould, 2002; Conway-Morris, 2003; Kirschner, Gerhart, 2005; Benton, Harper, 2009; Ferrier, 2010; Schierwater, Kamm, 2008; Nielsen, 2012). Такие гетерохронии, как педоморфоз и неотения, многократно выявлены в эволюционных исследованиях.

Важнейшую роль в контроле индивидуального развития и эволюционной дивергенции Eukaryota выполняют регуляторные гены, кодирующие транскрипционные факторы (Copley, 2008; Graaff et al., 2009; Srivastava et al., 2010; Sebé-Pedrós et al., 2010, 2011, 2013; Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015). Экспансия древних семейств транскрипционных факторов была эволюционным источником их диверсификации и эволюционных инноваций. Монофилетические царства растений и животных эволюционировали независимо, поэтому многие молекулярные механизмы их развития различны, однако показано и значительное сходство этих механизмов (Friedman et al., 2004; Willemsen, Scheres, 2004; Langdale, Harrison, 2008; Graaff et al., 2009). У Metazoa, несмотря на поразительное разнообразие планов строения, генетический инструментарий контроля развития и формирования плана строения в значительной мере оказывается общим для всех животных; данные сравнительной геномики свидетельствуют о высокой сложности предкового генома Eumetazoa, кодировавшего большинство процессов развития у представителей Metazoa вплоть до позвоночных.

Основой эволюционных трансформаций с увеличением информационной емкости онтогенетических процессов, и, как следствие, возрастанием сложности строения организмов, служило умножение числа регуляторных генов. Это увеличение происходило в значительной мере за счет полномасштабных дупликаций геномов (полиплоидизации) на разных этапах эволюционной истории (Holland et al., 1994; de Rosa et al., 1999; Josefowicz et al., 2003; Hoegg et al., 2004; Озернюк, Мюге, 2013). Примером взаимосвязи между дупликацией генов и формированием новых таксонов служат костистые рыбы, появившиеся около 350 млн. лет назад.

Макроэволюционные приобретения Bilateria в значительной мере обусловлены контролем пространственно-временнóй архитектуры организма генами *Hox*-кластеров. Система *Hox*-генов – ключевых регуляторов морфогенеза, определяющих общий план строения тела билатеральных животных, играла важнейшую роль в эволюционных преобразованиях

их онтогенеза (Holland, 2001; Carroll et al., 2005; Monteiro, Ferrier, 2006; Putnam et al. 2008; Ferrier, 2010; Srivastava, 2015). В ходе развития этих животных активация различных генов *Hox*-кластера, как и появление зачатков основных осевых структур тела, обычно происходит последовательно в переднезаднем направлении, что соответствует принципу пространственной колинеарности – корреляции между положением гена в *Hox*-кластере и региональной локализацией их экспрессии вдоль оси тела. Таким образом, гены *Hox*-кластера выполняют фундаментальную функцию кодирования позиционной информации вдоль переднезадней оси Bilateria. *Hox*-гены, контролирующие пространственно-временну́ю организацию тела билатеральных животных, функционируют как гены гетеротопий и гетерохроний. Сдвиги временно́й последовательности активации кластерных *Hox*-генов продуцируют гетерохронии, которые могут играть важную эволюционную роль (McNamara, 1986, 2002; Smith, 2003).

Многие важные регуляторные механизмы онтогенеза имеют эпигенетическую природу, не связанную непосредственно с функционированием генома, но служащие дополнительным элементом контроля развития на клеточном и тканевом уровнях. Такие механизмы эпигенетической регуляции, как метилирование ДНК, модификации гистонов, участие малых РНК и РНК-интерференции в контроле процессов репликации и репарации ДНК, транскрипции и трансляции, несомненно, оказывают влияние на дифференцировку и морфогенез развивающихся организмов. В частности, в регуляции процессов онтогенеза и его эволюционных изменений важная роль отводится некодирующим РНК, прежде всего, микроРНК, которые вовлечены в сложную регуляторную сеть, контролирующую развитие животных (Sperling, Peterson, 2009; Christodoulou et al., 2010; Hertel, Stadler, 2015; Srivastava, 2015). Эволюционное формирование новых семейств микроРНК тесно связано с усложнением организации Metazoa и важнейшими морфофункциональными инновациями (Wheeler et al., 2009).

Для понимания эволюционных трансформаций онтогенеза важен анализ концепций позиционной информации, морфогенетических полей действия генов, а также эпигенетического ландшафта и траекторий онтогенеза К. Уоддингтона, которые можно рассматривать в качестве системных регуляторных механизмов индивидуального развития.

В онтогенезе Metazoa и Metaphyta сформировались определенные системы стволовых клеток – клеточные ресурсы, обеспечивающие индивидуальное развитие, прежде всего, рост и дифференцировку, выживание (за счет физиологической и репаративной регенерации и поддержания тканевого гомеостаза), а также репродукцию, половую и агамную, всех многоклеточных организмов. В ходе эволюции прослеживается возрастание клеточных ресурсов роста и развития в раннем эмбриогенезе с

возникновением затем различных популяций стволовых клеток. Сохранение недифференцированного состояния и митотической активности популяций стволовых клеток у зародышей, личинок и взрослых животных (со сдвигом их дифференцировки на более поздние стадии онтогенеза) рассматривается как проявление локальных гетерохроний. Появление новых популяций недифференцированных стволовых клеток – проявление гетерохроний и гетеротопий в виде локальных эмбриоморфозов, обеспечивающих увеличение размера особей, пластичность и разнообразие морфогенезов, что играло ключевую роль в эволюции многих таксонов животного мира, особенно вторичноротых–хордовых–позвоночных (Исаева и др., 2013; Isaeva, 2015, 2016; Isaeva, 2016).

Формировавшиеся и совершенствовавшиеся на разных этапах эволюции механизмы регуляции индивидуального развития обеспечили разнообразие, пластичность и целостность онтогенезов. Для эволюционных преобразований онтогенеза характерно существование сложных жизненных циклов, связанное с наличием, наряду с типичным половым размножением, партеногенеза как редуцированной половой репродукции, а также бесполого (агамного) размножения, включающего полиэмбрионию и разнообразные типы почкования и деления особей. При агамном размножении происходит естественное клонирование организма, развившегося из зиготы, с образованием множества генетически идентичных индивидов. У размножающихся бесполым путем беспозвоночных нет раннего обособления линии половых клеток; тоти/плюрипотентные стволовые клетки способны к реализации всей программы развития, включающей гаметогенез и бластогенез. При бесполом размножении животных морфогенетические процессы многократно повторяются в течение жизни, подобно тому, что наблюдается у растений (Иванова-Казас, 1996; Исаева, 2010; Батыгина, Исаева, 2016). Таким образом, все многообразие форм животных и растений формируется в процессе онтогенеза благодаря высокой пластичности их индивидуального развития, разнообразию жизненных циклов и наличию различных типов размножения.

Авторы признательны С.В. Рожнову, Л.В. Белоусову, А.В. Чернышеву, О.С. Строевой, Э.Н. Григорян, М.А. Кулаковой, Т.Л. Маршак, А.В. Широковой, Т.А. Алексеевой и всем, кто так или иначе способствовал появлению этой книги.

Глава 1. ФЕНОМЕНОЛОГИЯ И МЕХАНИЗМЫ ЭВОЛЮЦИИ ИНДИВИДУАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

Становление эволюционной биологии развития

В течение нескольких последних десятилетий сформировалось новое направление исследований связи между индивидуальным развитием и эволюцией – эволюционная биология развития (evolutionary developmental biology, evo-devo). По этой междисциплинарной тематике проводят конференции, издают специализированные журналы и книги, читают курсы лекций в университетах. Известный канадский эмбриолог Б. Холл, озаглавивший свою монографию «Evolutionary Developmental Biology» (Hall, 1998), пришел к заключению, что направление evo-devo необходимо выделить в самостоятельную область эволюционной биологии, которая оперирует данными биологии развития, палеонтологии, зоологии, экологии на уровнях организмов и популяций. Официальное рождение концепции evo-devo как научной дисциплины произошло в 2000 году, когда Международный Совет по интегративной и сравнительной биологии учредил секцию evo-devo (Gilbert, 2003). Становление концепции evo-devo связано с эволюцией представлений исследователей о взаимосвязи эволюционных и онтогенетических процессов (Gould, 1977, 2002; Alberch, 1980; Иванова-Казас, 1995; Hall, 1998, 2002, 2003; Arthur, 2000, 2002; Белоусов, 2014; Gilbert, 2006; Müller, 2008; Laubichler, 2009; Воробьева, 2010а, б; Nielsen, 2012; Minelli, 2015a).

Основной задачей эволюционной биологии развития является анализ механизмов изменений онтогенеза, ведущих к эволюционным изменениям фенотипа, понимание эволюции репертуара развития и контроля процессов развития генетическими, эпигенетическими и средовыми факторами. Эволюционная биология развития фокусируется на анализе роли эволюционных трансформаций систем онтогенеза. Сочетая экспериментальный и описательный подходы, evo-devo исследует эволюцию систем развития, связь процессов формообразования с изменениями генотипа, появление новшеств развития и строения организма, способность эволюционировать (Gould, 1977, 2002; Arthur, 2002; Gilbert, 2006; Kirschner, Gerhart, 2005; Alonso, 2008; Brakefield, 2009; Jenner, 2008; Müller, 2008; Scholtz, 2008; Laubichler, 2009; Wainwright, 2009). Наиболее широкое толкование эволюционной биологии развития предложил Б. Холл: «Evo-devo охватывает все, что содержится в черном ящике между генотипом и фенотипом» (Hall, 2003). Эволюционная биология развития рассматривает проблему соотношения генотип-фенотип как картирование (mapping), отображение генотипа в фенотипе, проецирование генотипа в ходе развития в виде вариаций фенотипа, подвергаемых отбору (Kirschner, Gerhart, 2005;

Gilbert, 2007; Brakefield, 2008; Laubichler, 2009; Minelli, 2015a, b). Одна из важных проблем evo-devo – изучение способности развивающихся систем эволюционировать (Minelli, 2015a). Исследования эволюции развития выявили модулярную архитектуру развивающихся систем и сетей их генной регуляции (Hinman et al., 2003; Davidson 2006; Ben-Tabou de-Leon, Davidson, 2007; Erwin, Davidson, 2009; Wainwright, 2009).

Появились новые области исследований: «эко-эво-дево» (Gilbert, 2005), связывающая эволюционную биологию развития с экологическими особенностями среды обитания, а также «фило-эво-дево», отражающая стремление к выяснению механизмов взаимосвязи устойчивых морфологических изменений и эволюционных инноваций, которые соответствуют появлению новых ветвей на филогенетическом древе (Minelli, 2003, 2015a; Мартынов, 2009; Martynov, 2012).

История формирования evo-devo не ограничивается последними десятилетиями. Многие принципиальные положения о взаимосвязи индивидуального и исторического развития появились уже в XVIII веке. Начальным этапом изучения проблемы эволюции онтогенеза принято считать работы знаменитого эмбриолога и эволюциониста Карла Бэра (Karl Ernst von Baer, 1792-1876). Его исследования в области эмбриологии, зоогеографии и эволюционных проблем онтогенеза существенно повлияли на последующее развитие этих дисциплин. Вклад Бэра в науку был огромным: он создал учение о зародышевых листках (эктодерме, мезодерме, энтодерме), установил закон зародышевого сходства, первым обнаружил яйцеклетку у млекопитающих и был автором оригинальных эволюционных идей, связанных с проблемами развития. Бэр установил так называемый закон зародышевого сходства: у зародыша сначала возникают общие признаки типа, позднее намечаются признаки класса, позднее же проявляются морфологические черты рода и вида (рис. 1).

Исследования Э. Геккеля (E. Haeckel, 1834–1919), А.О. Ковалевского (1840–1901), И.И. Мечникова (1845–1916), И.И. Шмальгаузена (1884–1963), К Уоддингтона (C.H. Waddington, 1905–1977), О.М. Ивановой-Казас (1914-2015) заложили основы сравнительной и эволюционной эмбриологии как предпосылки создания эволюционной биологии развития (см. Иванова-Казас, 1995, 2015a; Гилберт, 2010; Nielsen, 2012; Minelli, 2015a). В частности, были сформулированы представления о типах индивидуального развития, включающие данные о разнообразии строения яиц, типов дробления, гаструляции, типов личиночного развития и органогенезов у различных групп беспозвоночных и позвоночных животных.

Одним из первых идеи о соотношении онтогенетических и филогенетических процессов высказывал выдающийся эволюционист Э. Геккель, который впервые постулировал взаимосвязь индивидуального и исторического развития. Гетерохрония и гетеротопия как изменения во времени или положения в пространстве какого-либо аспекта развития потом-

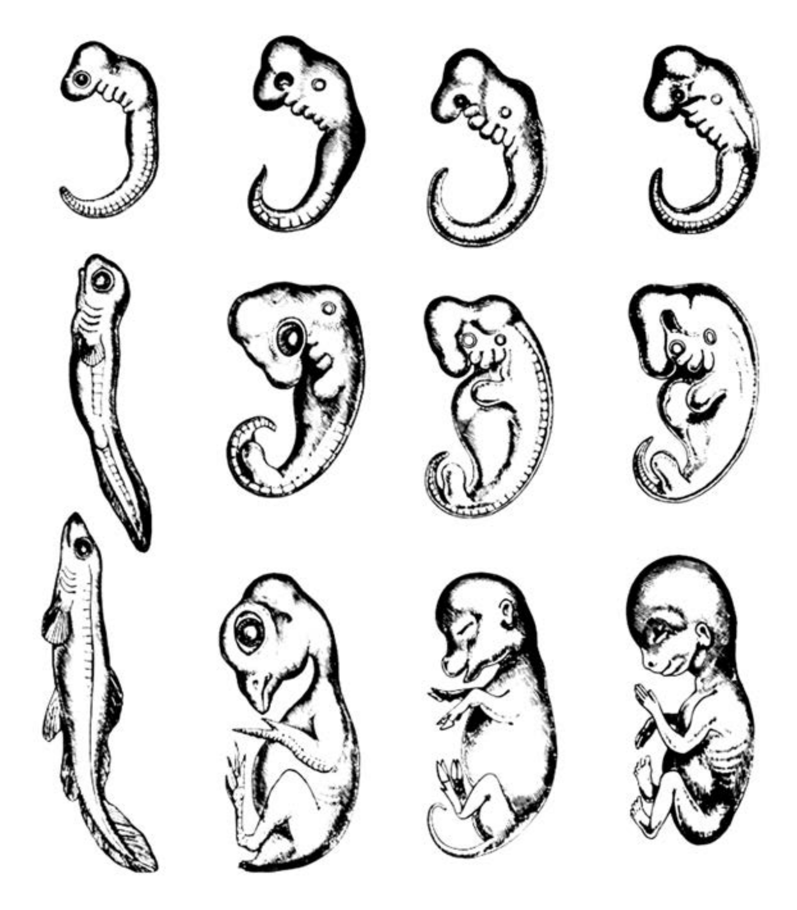


Рис. 1. Последовательные стадии развития позвоночных: рыбы, цыпленка, теленка, человека (по Arthur, 2008, с изменениями).

ка относительно предка – два эволюционных механизма, установленные Э. Геккелем (см. Иванова-Казас, 1995; Hall, 2003; Smith, 2003; Белоусов, 2005; Minelli, 2015a). Геккелем и Мюллером была разработана теория, получившая название основного биогенетического закона, сформулированного Геккелем следующим образом: «Развитие зародыша (онтогенез) есть сжатое и сокращенное повторение развития рода (филогенез), и это повторение тем полнее, чем более сохраняется... первичное развитие (палингенез); напротив, повторение это тем более неполно, чем больше произошло... позднейших (вторичных) нарушений развития (ценогенез)» (цит. по Иванов, 1937). Вполне очевидна морфологическая общность стадии развития позвоночных, представленной на рис. 1 в верхнем ряду и позже названной фарингулой (Ballard, 1976). На этой стадии зародыш обладает нотохордом, нервной трубкой и жаберными щелями.

В 20–30-е годы XX века В. Гарстанг, критикуя биогенетический закон Мюллера-Геккеля, утверждал, что онтогенез не повторяет филогенез, а творит его (см. Иванова-Казас, 1995; Minelli, 2015a). Де Бир (de Beer, 1930, 1958), анализируя связь между онтогенезом и эволюцией, пришел к заключению, что рекапитуляция – лишь один из возможных эволюционных сценариев. И.И. Шмальгаузен в 1938 году писал, что эволюция происходит путем отбора целых онтогенезов. А.Н. Северцов в 1939 году постулировал, что эволюция осуществляется путем изменения онтогенеза, и филогенез является функцией онтогенеза. Теории филэмбриогенеза А.Н. Северцова (1939), в которой он впервые ясно сформулировал роль онтогенеза в филогенетических преобразованиях, стала новой ступенью в исследованиях эволюционных проблем индивидуального развития. Согласно этой теории, онтогенетические изменения первичны по отношению к филогенетическим, эволюционным. С. Гулд в своей фундаментальной монографии «Ontogeny and Evolution» окончательно признал, что посредником важнейших эволюционных процессов служат перестройки онтогенеза (Gould, 1977).

По Северцову, крупные изменения, ведущие к усложнению организации и повышению интенсивности жизнедеятельности – ароморфозы, – определяют прогрессивное развитие группы. Частные приспособления – идиоадаптации – осуществляются, не изменяя прежний уровень организации. Важнейшие из модусов филэмбриогенеза в зависимости от времени их проявления в развитии разделены Северцовым на анаболии (надставки, относительно поздние изменения развития), девиации (отклонения от прежнего пути развития на его средней стадии) и архаллаксис как изменение развития с начальных стадий. Рекапитуляция предкового развития наблюдается как следствие лишь анаболических эволюционных изменений. Согласно Северцову (1939), происходят также ретардации (замедления), гетерохронии (изменения времени закладки зачатков) и гетеротопии (изменение мест закладки).

Проблему эволюционного усложнения процессов онтогенеза детально проанализировал И.И. Шмальгаузен (1938, 1983). Он отметил первостепенную значимость общего усложнения процесса индивидуального развития, что происходит за счет его удлинения в результате возрастания количества стадий, а также усложнения каждой из стадий и увеличения эффективности функционирования отдельных систем развивающегося организма на разных этапах эволюционного процесса. И.И. Шмальгаузеном была сформулирована концепция, включающая следующие формы адаптивных преобразований: алломорфоз, происходящий при смене среды, когда одни связи организма со средой заменяются другими; теломорфоз, при котором связи организма со средой становятся более ограниченными, а организм более специализированным; гиперморфоз – переразвитие организма вследствие быстрого из-

менения среды и нарушения координации с ней; катаморфоз – переход к более простым соотношениям со средой, связанным с дегенерацией или недоразвитием; ароморфоз – расширение среды, связанное с повышением уровня организации и жизнедеятельности; эпиморфоз – овладение средой, ее подчинение потребностям организма, достигаемое лишь на высших ступенях развития (Шмальгаузен, 1983).

Концепция эволюции онтогенеза Шмальгаузена тесно связана с его разработкой проблемы целостности организма в онто- и филогенезе и развитием идей А.Н. Северцова (Воробьева, 2010б). В соответствии с этими идеями, целостность организма – результат смены системы формообразовательных зависимостей (корреляций) в ходе индивидуального развития. Для понимания механизмов формирования целостности онтогенеза важно выделить различные уровни регуляции этого состояния. Прежде всего, выделяют систему геномных корреляций, обеспечивающих специфический контроль экспрессии генов, их взаимодействий и создание целостности развивающегося организма на генном уровне (Davidson, 2006). На ранних этапах развития, когда начинаются активные морфогенетические процессы, на систему геномных корреляций накладываются эпигеномные морфогенетические взаимодействия (Воробьева, 2010а, б). В морфогенетических корреляциях важную роль выполняют межклеточные взаимодействия, движения клеток и клеточных пластов (см. Дондуа, 2004, 2005; Белоусов, 2005; Гилберт, 2010). На более поздних стадиях развития организма, когда появляются ткани и органы, формируются физиологические (эргонтические) корреляции. Этот этап онтогенеза связан с формированием интегрирующих систем (нервной, эндокринной и иммунной), обеспечивающих целостность развивающегося организма на функциональном уровне. Таким образом, Шмальгаузен (1938, 1983) построил иерархию механизмов, объясняющих целостность на разных уровнях организации. Сформулированная И.И. Шмальгаузеном концепция стабилизирующего отбора объясняет механизм стабилизации индивидуального развития (Шмальгаузен, 1983). Идеи Шмальгаузена в области эволюции онтогенеза внесли, по признанию ряда известных исследователей (Alberch, 1980; Levit, 2007; Воробьева, 2010а, б), решающий вклад в подготовку современного этапа развития концепции evo-devo и оформления ее в самостоятельную область эволюционной биологии.

Механизмы эволюционных преобразований

Гетерохронии

Гетерохронии, гетеротопии и аллометрия (гетерометрия) – эволюционные изменения временных, пространственных и количественных (метрических) аспектов онтогенеза – рассматриваются как важные средства эволюционных преобразований развития (см. Северцов, 1939; Иванова-Казас, 1995; Gould, 1997, 2002; McNamara, 2002; Minelli, 2015a, b). Гетерохронии – наиболее известный, классический механизм эволюционных изменений относительного времени развития тех или иных структур или закладок (см. Рэфф, Кофмен, 1986; McNamara, 1986, 2002; Raff, Sly, 2000; Smith, 2003; Гилберт, 2010; Белоусов, 2014; Исаева, 2014; Озернюк, 2014; Рожнов, 2014; Isaeva, 2015; Minelli, 2015a, b). Э. Геккель (Haeckel, 1879), первым предложивший этот термин, разделял положительные гетерохронии (акселерации) – смещение сроков закладки органа или системы на более ранний этап онтогенеза и отрицательные гетерохронии (ретардации) – смещение сроков закладки на более поздние сроки. Основные представления о гетерохрониях сформулированы и обоснованы в книгах Северцова (1939), Де Бира (de Beer, 1958) и Гулда (Gould, 1977, 2002). Дальнейшие исследования клеточных, молекулярных и генетических механизмов расширили понимание эволюционных изменений и подняли интерес к проблеме гетерохроний на новый уровень (Smith, 2003; McNamara, 1986, 2002; Minelli, 2015a, b).

Наиболее явные временные сдвиги связаны с диссоциацией скоростей развития соматических признаков и скоростью созревания гонад, на чем основаны классические определения типов гетерохронии (Gould, 1977; Рэфф, Кофмен, 1986). Де Бир (De Beer, 1958) выделил такие эволюционные модусы, как ценогенез (появление новых признаков), девиация (отклонение), педогенез и неотения. Гулд (Gould, 1977, 2002) уточнил и конкретизировал классификацию основных типов гетерохроний, разделив их на акселерацию (ускорение соматической дифференцировки), педоморфоз, или прогенез (ускорение развития репродуктивной системы), неотению (задержка соматической дифференциации) и гиперморфоз (задержка развития репродуктивной системы).

Представления различных авторов о типах гетерохроний и их эволюционном значении не полностью совпадают. Несколько упрощая, можно выделить следующие основные типы гетерохроний: акселерацию, педоморфоз (прогенез и неотению), гиперморфоз. Акселерация характеризуется ускоренным появлением соматических признаков без изменения сроков созревания репродуктивных органов; прогенез – ускорением репродуктивного созревания без изменения сроков появления соматических признаков, неотения – замедлением появления соматических признаков без изменения сроков репродуктивной зрелости; гипер-

морфоз характеризуется задержкой созревания репродуктивных органов без изменения сроков появления соматических признаков (Gould, 1977; Рэфф, Кофмен, 1986).

Помимо названных типов гетерохронии, классификационная номенклатура разных авторов включает ряд других вариантов. Де Бир (De Beer, 1958) дополнительно выделял геронтоморфоз как модификацию признаков взрослого организма и феталидацию как сохранение взрослыми потомками состояния плода или молодого организма предка (см. также Рэфф, Кофмен, 1986; Гилберт, 2010). Олберч с соавторами (Alberch et al., 1979) расширили классификацию типов гетерохроний, добавив, в частности, карликовость. Карликовость, как и гигантизм, – результат глобального, пропорционального изменения анцестральных ростовых характеристик развития. МакНамара (McNamara, 1986, 2002) ввел представление о пераморфозе как результате возрастания скорости изменения формы или периода этих изменений до такой степени, что взрослая форма потомка морфологически выходит «за пределы» анцестрального состояния. При уменьшении скорости изменений или их периода взрослая форма потомка проходит меньше стадий роста, становясь сходной с ювенильной стадией предка – возникает педоморфоз как некая противоположность пераморфозу (McNamara, 1986, 2002).

Четкие различия между ускорением развития половой системы и замедлением развития соматических органов отсутствуют (De Beer, 1958), поэтому далеко не всегда есть возможность судить, произошла ли в эволюции данного вида акселерация развития половой системы, т.е. прогенез, или ретардация развития соматических органов, т.е. неотения (Иванова-Казас,1995). Все типы гетерохроний могут быть глобальными, затрагивающими весь организм, либо локальными, создающими мозаичность проявлений гетерохронии (Рэфф, Кофмен, 1986; McNamara, 2002). Например, гиперморфоз может приводить к увеличению размера всего тела или же его отдельных частей. Акселерация морфологического развития как увеличение степени неравномерного роста (аллометрии) продуцирует пераморфных потомков; если акселерация затрагивает лишь отдельные структуры, общего увеличения размера тела может не происходить (McNamara, 1986, 2002).

Де Бир (De Beer, 1958) полагал, что педоморфоз, ведущий к крупным изменениям при сохранении пластичности и возможности дальнейшей эволюции, подобен ароморфозу Северцова, тогда как геронтоморфоз, дающий небольшие изменения и редуцирующий возможность дальнейшей эволюции, сопоставим с идиоадаптацией. Педоморфоз открывает широкие возможности для крупномасштабных эволюционных перестроек с возникновением новых таксонов животного мира путем скачкообразного изменения организации за счет исчезновения поздних стадий развития (Gould, 1977; McNamara, 1986; Белоусов, 2005). В частности,

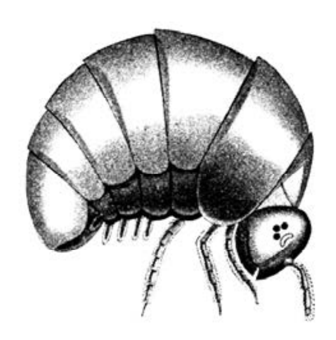


Рис. 2. Шестиногая личинка Myriapoda как гипотетическая предковая форма насекомых (по De Beer, 1958).

де Бир предполагал, что путем педоморфоза ранние хордовые произошли от личинок типа диплеурулы, насекомые – от шестиногих личинок многоножек (De Beer, 1958; рис. 2).

Не исключено, что педоморфные личинки многоножек послужили отправной точкой эволюции насекомых, причем вслед за педоморфозом должен был произойти целый ряд дальнейших генетических изменений, контролирующих сегментацию и расчленение отдела тела насекомых (Рэфф, Кофмен, 1986). Однако, молекулярные данные свидетельствуют о большей близости насекомых к ракообразным, чем многоножкам (см. Nielsen, 2012; Jockush, Smith, 2015).

Педоморфоз, представленный неотенией и прогенезом – наиболее часто рассматриваемый тип гетерохроний (см. Рэфф, Кофмен, 1986; McNamara, 2002; Исаева, 2014). Неотения рассматривается как педоморфоз путем замедленного развития соматических признаков, а прогенез – как педоморфоз путем урезания соматического развития (Рэфф, Кофмен, 1986). Для пераморфоза типично "переразвитие" отдельных соматических признаков или их комплекса. В случае прогенеза раннее половое созревание продуцирует взрослых меньшего размера; прогенез как урезание соматического развития – реакция на условия среды, когда интенсивное размножение или малые размеры особей могут оказаться выгодными (Рэфф, Кофмен, 1986). Прогенез может затрагивать все структуры организма либо влиять на отдельные зоны роста, создавая мозаичность проявлений гетерохроний (McNamara, 1986, 2002).

Самое известное проявление педоморфоза и вообще гетерохроний – неотения, с классическим примером сохранения личиночной морфологии аксолотля. При неотении за счет относительного замедления скорости развития тела возникает крупный взрослый организм с анцестральными характеристиками личиночных или ранних стадий развития (De Beer, 1958; McNamara, 1986, 2002). Неотения многократно выявлена в эволюционных исследованиях; неотенические признаки найдены у птиц, млекопитающих и человека, включая аллометрическое увеличение объема мозга и проявление ряда эмбриональных признаков во взрослом состоянии (см. De Beer 1958; Рэфф, Кофмен, 1986). Педоморфоз по типу неотении позволяет избежать специализации и может привести к глобальному изменению онтогенеза, способному открыть перед организмом новую адаптивную зону и возможность макроэволюционных преобразований (Рэфф, Кофмен, 1986). Запаздывание развития соматичес-

ких тканей обеспечивает пластичность материала; животные возвращаются к лабильному состоянию, свойственному ранним стадиям онтогенеза, что дает возможность дальнейшей эволюции в новых направлениях (De Beer, 1958; Gould, 1977). Как и другие проявления гетерохроний, неотения может быть глобальной, затрагивающей весь организм, или влияющей только на некоторые морфологические структуры.

Так или иначе, явления гетерохроний, выявленные у многих групп организмов и базирующиеся на изменениях регуляторных генов, представляют собой мощное средство изменения морфологических признаков и плана строения тела при формировании таксонов разного ранга, включая позвоночных (Kirschner, Gerhart 2005; Smith, 2003; Müller, 2008; Воробьева, 2010а, б; Minelli, 2015a). Различные типы и механизмы гетерохроний связаны с разными жизненными стратегиями и продуцируют разные фенотипические результаты.

У всех билатеральных животных найдено множество гетерохронных сдвигов процессов развития. Сравнение экспрессии гена гомеобокса *Vent*, маркера вентральной мезодермы хордовых, у ланцетника *Amphioxus* и представителей позвоночных животных, показало, что экспрессия *Vent* у позвоночных ускорена по сравнению с *Amphioxus*, как и дифференцировка вентральной мезодермы. Предполагается, что преждевременное появление мезодермы – важная эволюционная инновация позвоночных (см. Smith, 2003).

Переход к прямому развитию представителей многих типов животных, анцестральный жизненный цикл которых включает личиночную стадию, также вовлекает гетерохронные сдвиги (Рэфф, Кофмен, 1986; Raff, Wray, 1989; Hinman et al., 2003; Raff, Raff, 2009; Гилберт, 2010). Прямое развитие возможно лишь при достаточном запасе питательного материала (Иванов, 1937; Рэфф, Кофмен, 1986; Касьянов, 1989; Kasyanov, 2001). Наиболее изучены гетерохронии, связанные с переходом к прямому, эволюционно вторичному развитию, у иглокожих. У двух видов одного рода морских ежей, *Heliocidaris tuberculata* и *Heliocidaris erythrogramma*, при сходстве взрослых животных существенно различается их развитие. У *H. tuberculata* из небольшой яйцеклетки (диаметром 95 мкм) развивается типичная для морских ежей личинка – планктотрофный плутеус. У *H. erythrogramma* личиночная стадия выпадает, ювенильный морской еж быстро развивается из крупного (диаметром 425 мкм) яйца путем прямого лецитотрофного развития, что сопряжено с существенной реорганизацией гаметогенеза и эмбриогенеза (Raff, Wray, 1989; Raff, Raff, 2009). При прямом развитии *H. erythrogramma* события резко ускорены и гетерохронно сдвинуты, изменилась материнская программа, выпали такие события раннего развития, как формирование личиночных структур, скелетных и пищеварительных. У *H. erythrogramma* наблюдается переключение детерминации дорсо-вентральной оси на

материнский контроль; последующее формирование лево-правой оси также происходит преждевременно, гетерохронно (Raff, Raff, 2009).

Гетерохронии и гетеротопии при переходе от развития с планктотрофной личинкой к лецитотрофии неоднократно найдены у морских беспозвоночных (Касьянов, 1989; Kasyanov, 2001). Гетерохронные сдвиги в зависимости от размеров яиц и запасов желтка происходят также при развитии хвостатых амфибий (Рэфф, Кофмен, 1986). Например, у древесной лягушки *Eleuterodactylus coqui* наблюдается прямое развитие, без прохождения стадии головастика: из крупных яиц (диаметром около 3,5мм) появляется сразу маленькая лягушка с хвостом, выполняющим дыхательную функцию, а затем редуцирующимся. Гетерохронии в процессе развития *E. coqui* наиболее выражены в ускорении формирования конечностей: почки конечностей возникают вслед за нейруляцией (Elinson et al,. 2011). Во всех подобных случаях перехода к прямому развитию гетерохронии затрагивают эмбриогенез, но не морфологию взрослого организма (Raff, Wray, 1989; Рэфф, Кофмен, 1986; Elinson et al., 2011).

У личинок беспозвоночных гетерохронии проявляются в преждевременной дифференцировке клеток, органов и целых отделов тела, что связано с необходимостью их функционирования при самостоятельном образе жизни личинки. Например, на стадии велигера некоторых моллюсков частично совмещены черты трохофоры и взрослого моллюска, что трактуется как сдвиг признаков взрослых животных на личиночные стадии – адультация как вариант гетерохронии. У таких моллюсков гетерохронии проявляются уже на стадии гаструляции, когда одновременно с появлением архентерона наблюдается впячивание формирующейся раковинной железы (см. Иванова-Казас, 1995). Хорошо изученным примером эволюционной гетерохронии служит преждевременная экспрессия скелетогенных функций в линии микромеров при образовании личиночного скелета плутеуса морских ежей. Предполагается, что в ходе эволюции морских ежей произошла вставка, кооптация в эмбриональное развитие анцестральной генной регуляторной сети, контролирующей события позднего скелетогенеза (Gao, Davidson, 2008). Яркие проявления гетерохроний выявлены у офиур А.В. Мартыновым (2009) путем сравнения морфологии личинок и взрослых особей – как педоморфных, так и лишенных проявлений педоморфоза.

Сдвиг относительного времени экспрессии генов может продуцировать значительные фенотипические изменения, что позволяет связать микроэволюционные процессы с макроэволюционными изменениями. Как известно, идентичные генотипы могут дать радикально различные фенотипы у одного вида полифенических организмов; в развитии социальных насекомых обычными переключателями паттерна генной экспрессии служат гормоны, которые могут направлять развитие организма по альтернативному пути. Гетерохронные сдвиги в секреции гормона,

появлении какого-либо регуляторного фактора или его рецептора, т.е. простые молекулярные гетерохронии, могут привести к развитию альтернативных фенотипов (Smith, 2003).

У членистоногих под нейроэндокринным контролем находятся рост, линька, метаморфоз и половое размножение. У насекомых нейросекреторные клетки мозга выделяют проторакотропный гормон, стимулирующий секрецию клетками проторакальной железы экдизона, который затем превращается в активную форму – экдистерон, вызывающий линьку. Прилежащие тела (corpora allata) секретируют ювенильный гормон (неотенин), при отсутствии которого линька происходит на имагинальной стадии (см. Иванова-Казас, 1996; Гилберт, 2010). Удаление прилежащих тел (аллатэктомия) у молодых нимф палочника *Carausius* (Hemimetabola) ведет к прекращению нимфальных линек и появлению карликового имаго. Пересадка прилежащих тел от молодых нимф к поздним вызывает увеличение числа линек и образование «гигантских» взрослых палочников. У Holometabola начало функционирования прилежащих желез сместилось на более ранние стадии эмбриогенеза, что приводит к вылуплению упрощенных червеобразных личинок на более ранней стадии развития; в результате возрастания морфологической и функциональной дивергенции между личинками и имаго появились стадия куколки и полный метаморфоз (Иванова-Казас, 1995).

Самые общие механизмы, определяющие «стрелу времени» развития организма и возможные гетерохронии, рассмотрены Смит (Smith, 2003). Один из этих механизмов – накопление или разбавление до порогового уровня какого-либо морфогенетически существенного фактора или комплекса факторов. Предполагается, что такого рода механизм контролирует переход от дробления к гаструляции, сигналом к которому может быть сдвиг ядерно-плазматического отношения после делений дробления. Другой временно́й механизм базируется на молекулярных осцилляциях с обратной связью, наиболее изученных в случае «сомитных часов» (Smith, 2003; Oates et al., 2012).

У *Caenorhabditis elegans* обнаружены эволюционно консервативные гены гетерохроний (“heterochronic genes”), контролирующие временно́й паттерн развития: преждевременное или замедленное выполнение программ развития; некоторые их этих генов влияют и на продолжительность жизни червя (см. Slack, Ruvkun, 1998; Kato, Slack, 2008; Исаева, 2014; Озернюк, 2014). В основе эволюционных изменений «расписания» развития могут лежать временные вариации экспрессии *Hox*-генов, других гомеобокс-содержащих генов, а также генов, кодирующих молекулы сигнальных систем (Smith, 2003) и микроРНК (Kato, Slack, 2008). Как известно, колинеарность экспрессии генов Hox-кластера делает временно́й порядок активации этих генов основой «расписания» развития как преобразования последовательности активации различных генов Hox-

кластера в последовательность территорий, различающихся набором работающих *Hox*-генов (Akam, 1998a; Кулакова и др., 2014). Сдвиги анцестральной временнóй последовательности активации кластерных *Hox*-генов продуцируют гетерохронии, которые могут играть важную роль в эволюционных преобразованиях.

Гетеротопии

Гетеротопии как изменения пространственной локализации закладки той или иной структуры или органа в ходе индивидуального развития могут привести к существенным эволюционным изменениям плана строения тела, отличающегося от предковой формы (De Beer, 1958; Gould, 1977, 2002; Рэфф, Кофмен 1986; Иванова-Казас, 1995). Например, гетеротопии ооплазматической локализации детерминант линии половых клеток предопределяют будущую локализацию примордиальных половых клеток (Иванова-Казас, 1995; Extavour, 2008; Гилберт, 2010). Изменения организации яйцеклетки, связанные с преобразованиями репродуктивной стратегии, представляют собой проявления гетерохроний и гетеротопий на клеточном уровне. В ходе раннего дробления детерминанты и молекулярные маркеры клеток половой линии, такие, как белковые продукты генов *vasa* и *piwi*, асимметрично наследуются одним или несколькими бластомерами, определяя их судьбу, а иногда и судьбу всего организма. Например, у паразитоидной осы-наездника *Copidosoma floridanum* наблюдается полиэмбриония и ларвальный полифенизм: помимо нормальных личинок, развиваются «солдаты» – незрелые личинки с развитыми мандибулами, выполняющие альтруистическую функцию защиты от конкурентов и затем погибающие (Donnell et al., 2004). У этого вида ген *vasa* экспрессируется в одном из первых четырех бластомеров вторичных зародышей, способных к развитию в половозрелых взрослых ос; этот Vasa-положительный бластомер дает начало первичным половым клеткам, тогда как у эмбрионов, дающих «солдат», экспрессия гена *vasa* отсутствует во всех четырех бластомерах (Donnell et al., 2004).

Создаваемая в ходе оогенеза пространственная организация ооплазмы преформирует у большинства билатерально-симметричных животных анимально-вегетативную, а иногда и дорсо-вентральную ось организма. Эволюционные преобразования плана строения тела сопряжены с реорганизацией ооплазмы – пространственными изменениями локализации морфогенетически значимых молекулярных комплексов в цитоплазме яйцеклетки (Иванов, 1937; Иванова-Казас, 1995; Гилберт, 2010).

Спецификация энтомезодермы у иглокожих определяется консервативными модулями генных сетей. Ген *tbrain* (*tbr*) у зародышей морского ежа экспрессируется исключительно в скелетогенных клетках вскоре после отделения этой клеточной линии, тогда как экспрессия ортолога этого гена у зародышей морской звезды, голотурии и полухордовых на-

блюдается во всей проспективной мезодерме и энтодерме (Raff, Wray, 1989; Hinman et al., 2003). Экспрессия гена *tbr* во всей энтомезодерме, вероятно, представляет собой плезиоморфное, унаследованное от предков состояние; появление же линии скелетогенных клеток у эмбрионов морского ежа – относительно недавнее эволюционное приобретение (Raff, Wray, 1989; Hinman et al., 2003).

Hox-гены контролируют и гетерохронии, и гетеротопии (см. Кулакова и др., 2014). Мутации этих генов могут приводить к эктопическому возникновению некоторых структур. Например, при мутации гена *Antennapedia* антенна дрозофилы может быть заменена конечностью; мутации генов комплекса Bithorax могут продуцировать мутантов со второй парой крыльев вместо жужжалец (балансеров) – как у четырехкрылых насекомых (рис. 3).

Мутация гена *Contrabithorax* превращает второй грудной сегмент в третий, в результате чего появляется муха с двумя парами жужжалец (см. Рэфф, Коффмен, 1986; Gould, 2002). У мух, мутантных по *Hox*-генам *Sex combs reduced* и *Abdominal-A*, зачатки крыльев формируются в большинстве туловищных сегментов (Carroll et al., 1995; см. Gould, 2002; Корочкин, 2002а, б; Захаров-Гезехус, 2008; Корчагина и др., 2010; Бакаленко и др., 2012). У вымерших насекомых девонского периода (Paleodictyoptera) крылоподобные придатки развивались и на грудных, и на брюшных сегментах (Kirschner, Gerhart, 2005; рис. 3). У дрозофил, гомозиготных по мутации *Ultrabithorax*, третий грудной и первый брюшной сегменты становятся вторым грудным отделом тела; зародыши таких мух гибнут на поздних стадиях развития (см. Рэфф, Коффмен, 1986).

Перестройки генных регуляторных каскадов, включающих *Hox*-гены, играли важную роль в эволюции осевой организации и модификаций строения конечностей Metazoa. Число, расположение и структура конечностей у Onychophora и Arthropoda, как правило, контролируется геном *Ultrabithorax* (*Ubx*). Эктопическая экспрессия *Ubx* у амфиподы *Parhyale*

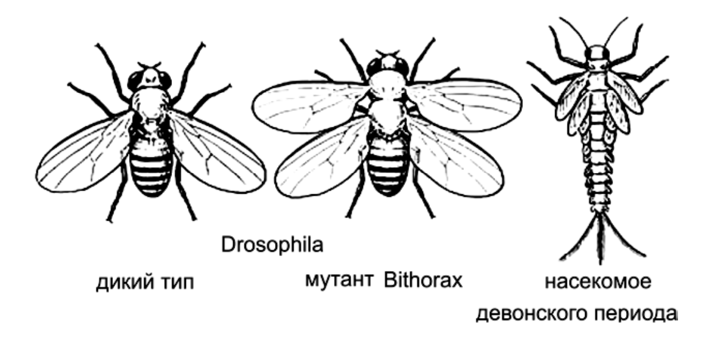


Рис. 3. Фенотип дрозофилы дикого типа, мутанта *Hox*-гена комплекса Bithorax и насекомого девонского периода (по Kirschner, Gerhart, 2005, с изменениями).

hawaiensis трансформирует ногочелюсти в ходильные ноги, а вторую пару максилл превращает в ногочелюсти (см. Корчагина и др., 2010). Исследование эволюционного перехода от плавников рыб к конечностям тетрапод дает возможность понять преобразования экспрессии *Hox*-генов в этом процессе (Ahlberg, 2003; Воробьева, 2010а, б). У млекопитающих *Hox*-гены определяют паттерн позвоночника и развитие реберных отростков на позвонках. Выпадение экспрессии одного *Hox*-гена либо нарушение порядка расположения генов в *Hox*-кластере может вызвать крупномасштабную гетеротопию с макроэволюционным преобразованием строения организма.

Таким образом, макроэволюционные преобразования плана строения Bilateria в значительной мере обусловлены контролем их пространственно-временнóй организации гомеобокс-содержащими генами, прежде всего генами *Hox*-кластеров, и другими генами, регулирующими гетеротопии и гетерохронии (см. Carroll, 1995; Akam, 1998a; Gould, 2002; Minelli, 2003, 2015a,b; Кулакова и др., 2014; Исаева, 2014; Озернюк, 2014).

Сопряженность гетерохроний, гетеротопий и аллометрии

Крупные эволюционные изменения обычно включают комплекс гетерохронных и гетеротопных сдвигов, связанных с изменениями роста. В ходе развития неизбежен аллометрический (гетерометрический) рост, обусловленный интенсивностью и длительностью клеточного размножения, сопряженный с гетерохрониями и гетеротопиями в определенных частях растущего организма. Классические представления о гетерохрониях связывают их со сдвигами ростовых процессов (началом, прекращением и скоростью роста), изменяющих размер и форму частей организма, особенно на ранних стадиях развития (Gould, 1977; Alberch et al., 1979; McNamara, 1986, 2002; Рэфф, Кофмен, 1986; Smith, 2003). Согласно взглядам МакНамары, гетерохронии вовлекают три фундаментальные составляющие роста: размер, форму и время, с их расширением или сжатием (McNamara, 1986, 2002). Поскольку при гетерохрониях изменяются относительные скорости развития, т.е. коэффициенты аллометрического роста, гетерохронии в какой-то мере стали синонимом аллометрии (Smith, 2003). Гетерохронии неизбежно сопряжены и с гетеротопиями, так как аллометрический рост (локальное клеточное размножение) – обычный механизм неравномерного роста эмбриональных зачатков и одно из основных средств достижения видоспецифической формы (Иванова-Казас, 1995; Белоусов, 2005). Таким образом, гетерохронии концептуально неотделимы от гетеротопий и аллометрии, как неотделимы временные и пространственные преобразования в ходе развития.

В эволюции билатеральных животных происходило множество гетерохронных и гетеротопных сдвигов процессов развития. Если размер и

форма структуры остаются теми же относительно размера всего организма, рост рассматривается как изометрический. Если отдельные структуры увеличиваются в размере относительно целого организма и изменяют свою форму, проявляется положительная аллометрия, при уменьшении относительного размера структуры наблюдается отрицательная аллометрия (McNamara, 1986, 2002). Аллометрическое изменение пропорций тела как деформация линий координатной сетки наглядно представлено широко известными иллюстрациями книги Д'Арси Томпсона (D'Arcy Thompson, 1942; рис. 4).

Аллометрия (гетерометрия, неравномерный рост) обычно рассматривается как изменение темпов роста тех или иных структур в ходе индивидуального и исторического развития. Алломерические зависимости выявляются в процессе роста отдельных особей одного вида, близких видов, отличающихся размером и, наконец, взрослых организмов, образующих одну эволюционную линию; на основе этой градации было введено понятие соответствующих аллометрических рядов (см. Рэфф, Кофмен, 1986).

Для описания аллометрических зависимостей Гексли (Huxley, 1932) предложил применять количественный метод анализа, используя формулу:

$$y = bx^{\alpha},$$

где y – размеры исследуемой структуры; x – размеры всего тела или другой структуры, с которой сравнивается исследуемая структура; α – показатель степени, отражающий соотношение удельных скоростей роста y и x; b – константа. Обычно это уравнение используют в логарифмическом виде:

$$\log y = \log b + \alpha \log x$$

В этом случае получается более удобная для анализа линейная зависимость с углом наклона α и с точкой пересечения с осью ординат, равной $\log b$, что дает возможность количественно оценивать аллометрические зависимости. Относительные изменения скорости роста частей тела (положительная и отрицательная аллометрия), неравномерный рост в процессе развития являются способом эволюционного формирования

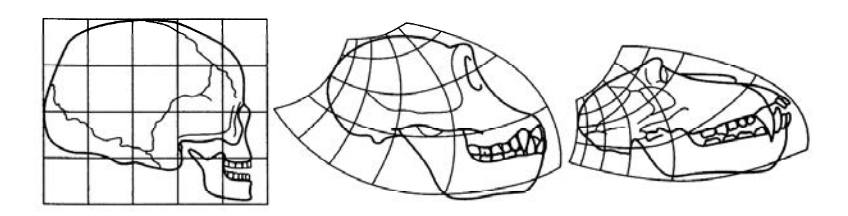


Рис. 4. Аллометрические изменения формы черепа млекопитающих как преобразования координат (D'Arcy Thompson, 1942).

разнообразия плана строения организма. Таким образом, аллометрический рост изменяет пропорции тела и соотношение его частей, т.е. ведет к гетеротопным трансформациям.

В частности, аллометрическим ростом можно объяснить различия размера и морфологии отдельных элементов скелета конечностей позвоночных. Например, формирование однопалой конечности лошади в процессе эволюции обычно объясняют аллометрическим ростом среднего пальца конечности относительно других пальцев. При сравнении вариантов строения скелета конечностей современных млекопитающих весьма очевидна связь аллометрических эволюционных изменений и гетеротопии (рис. 5).

В качестве механизма неравномерного роста частей развивающегося организма Гексли (Huxley, 1932) предложил рассматривать активацию генов скорости роста, постулированных Р. Гольдшмидтом (Goldschmidt, 1938). Ускорение роста отдельных органов или их частей может быть связано также с повышенной чувствительностью клеток в этой зоне к факторам роста или активацией синтеза этих факторов роста (Gilbert, 2006). Экспериментальное исследование роста крыльев бабочки *Bicyclus anynana* дало возможность изучения роли генов и фенотипической пластичности при аллометрической генерации пятен на крыльях (Brakefield, 2009).

При развитии конечностей позвоночных проявляется также сопряженность гетерохроний, гетеротопий и аллометрии. Рост почек конечностей амниот, как известно, контролируется апикальным эктодермальным гребнем (зоной клеточной пролиферации) и зоной поляризующей активности, которая характеризуется экспрессией белка Sonic hedgehog (SHH).

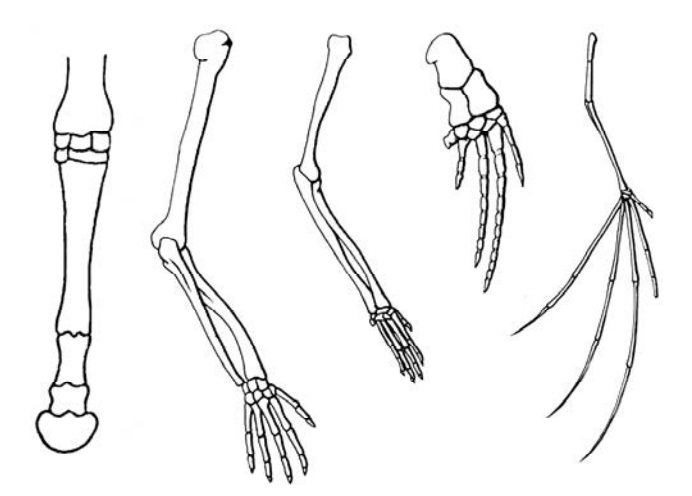


Рис. 5. Варианты конечностей млекопитающих; слева направо: лошадь, человек, кошка, кит, летучая мышь (по Kirschner, Gerhart, 2005; Северцов, 2012, с изменениями).

Было показано, что длительность активности гена *Sonic hedgehog* (*Shh*), кодирующего этот белок, варьирует в прямой пропорции к числу пальцев у изученных видов австралийских ящериц рода *Hemiergis* (Shapiro et al., 2003). У *H. initialis* с полным набором из пяти пальцев обнаружен наиболее длительный период экспрессии, у *H. peronii* с тремя или четырьмя пальцами на каждой конечности – промежуточный, у *H. quadrilineata*, обладающей только двумя пальцами – наиболее короткий. При этом у *H. quadrilineata* выявлено падение пролиферации клеток в задних частях почки конечности (Shapiro et al., 2003). Итак, макроэволюционное событие – утрата пальцев – обусловлено гетерохронным сдвигом длительности экспрессии одного лишь гена, влияющего на клеточную репродукцию (Shapiro et al., 2003; Smith, 2003). У зародышей дельфинов *Stenella attenuata* временно появляются почки задних конечностей, временно формируется апикальный эктодермальный гребень, но экспрессия гена *Shh* в почке конечности отсутствует, и задние конечности не развиваются. Авторы этого исследования пришли к предположению о редукции экспрессии *Shh* в ходе эволюции китообразных (Thewissen et al., 2006). Показано также, что длительное присутствие зоны клеточной пролиферации коррелирует с гиперфалангией отдельных пальцев плавников дельфина (Richardson, Oelschläger, 2002).

Таким образом, гетерохронные сдвиги генной экспрессии могут вызвать существенные морфологические изменения – утрату или удлинение конечностей, изменение числа пальцев и их фаланг – полидактилию и полифалангию (Ahlberg, 2003; Shapiro et al., 2003; Smith, 2003; Thewissen et al., 2006). Приведенные данные ясно демонстрируют сопряженность гетерохроний генной экспрессии, аллометрического роста и гетеротопий в эволюционных преобразованиях конечностей позвоночных.

Изменения организации яйцеклетки, связанные с переходом к прямому развитию, представляют собой проявления гетеротопий и гетерохроний на клеточном уровне. Прогенез на клеточном уровне выявлен и в организации спермиев животных некоторых таксонов (см. Юшин, Малахов, 2014). Так, спермии представителей нематод характеризуются амебоидностью, большим объемом цитоплазмы, многочисленными митохондриями, неполной конденсацией хроматина, отсутствием ядерной оболочки и акросомы, т.е. чертами, свойственными недифференцированной клетке. Сохранение признаков ранних сперматогенных клеток и раннее созревание морфологически ювенильной стадии рассматривается как прогенез на клеточном уровне (Юшин, Малахов, 2014).

Гетерохронии, гетеротопии и аллометрические зависимости связаны с существенными сдвигами клеточной пролиферации и роста частей зародыша, что может вести к заметным изменениям фенотипа животных (Корочкин, 2002б; McNamara, 2002). Например, формирование зачаточных глаз у одного вида пещерной рыбы обусловлено задержкой образо-

вания глазных пузырей и замедлением митотических делений по сравнению с речным видом (см. Рэфф, Кофмен, 1986). Морфология кольчатых червей, моллюсков, форонид, сипункулид естественно выводится из организации трохофоры путем добавления зон клеточного размножения различной локализации; у моллюсков локальные зоны клеточного размножения ведут к формированию раковины и ноги, зона роста с образованием сегментов у аннелид и членистоногих обычно расположена на заднем полюсе тела (Иванова-Казас, 1995; Белоусов, 2005). Гетеротопии в развитии зависят не только от наличия зон интенсивного роста, но и от его направления (Иванова-Казас, 1995).

В онтогенезе всех Metazoa и Metaphyta присутствуют те или иные ресурсы стволовых клеток, дифференциация которых начинается на более поздних стадиях, что представляет собой проявление гетерохронии. Гетеротопии проявляются в различной локализации стволовых клеток у зародышей, личинок и взрослых животных разных таксонов. Существенную роль в эволюционных преобразованиях клеточных ресурсов роста и развития играла регуляция экспрессии генов, контролирующих темпы и локализацию клеточных делений в тех или иных частях развивающегося организма. Появление новых популяций недифференцированных стволовых клеток, которое по аналогии с педоморфозом можно назвать локальным эмбриоморфозом (Исаева и др., 2013; Исаева, 2014; Isaeva, 2015), оказалось очень важным в эволюции многих таксонов животного мира, особенно линии вторичноротых–хордовых–позвоночных.

Таким образом, аллометрический рост как размножение эмбриональных и стволовых клеток растущего организма, обусловленный интенсивностью и длительностью митотической активности этих клеток, сопряжен с гетерохрониями и порождает гетеротопии.

Эволюционные преобразования плана строения в онтогенезе животных

Наиболее важные переходы в ранней эволюции многоклеточных животных обусловлены эволюционными приобретениями на клеточном уровне, прежде всего самим возникновением многоклеточности с системой межклеточной коммуникации, специализированных клеточных контактов и клеточной дифференцировкой (Holland, 1998; Kirschner, Gerhart, 2005; Nielsen, 2012; рис. 6).

Как ключевые эволюционные события клеточного и тканевого уровней рассматриваются возникновение эпителиальных слоев клеток, зародышевых листков, сквозного кишечника, билатеральной симметрии, нервных и мышечных клеток, цефализация с концентрацией сенсорных органов и нервных клеток на переднем конце тела (Holland, 1998; Дондуа, 2005; Kirschner, Gerhart, 2005; Nielsen, 2012; Serrelli, Gontier, 2015).

Присутствие нейронов как специализированных коммуникационных клеток – наиболее заметная апоморфия книдарий и билатеральных животных, объединяемых по этому признаку как Neuralia (Nielsen, 2012). Возникновение билатеральности и становление новой переднезадней оси связано с переходом от пелагического или сидячего образа жизни к ползающему (Nielsen, 2012). Эволюционный переход от двуслойных книдарий к трехслойным билатеральным животным с возникновением третьего зародышевого листка, мезодермы привел к разнообразию вновь возникающих тканей и органов, появлению экскреторной системы, полости тела (целома), сегментации.

Важной эволюционной инновацией стала генерация линии гаметогенных клеток при потере гаметогенного потенциала большинством клеток организма предков многоклеточных животных, Urmetazoa (Extavour, 2008). В ходе эволюции прослеживается возрастание клеточных ресурсов роста и развития в раннем эмбриогенезе с возникновением затем различных популяций стволовых клеток. В онтогенезе всех животных присутствуют те или иные ресурсы стволовых клеток (по крайней мере, гаметогенных), способных к последующей дифференцировке на более поздних стадиях.

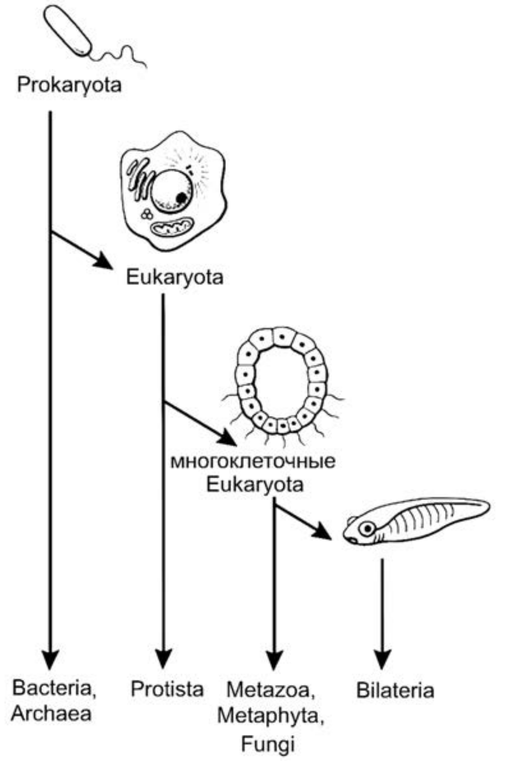


Рис. 6. Ключевые эволюционные преобразования на клеточном и тканевом уровнях (по Kirschner, Gerhart, 2005, с изменениями).

В эволюции поэтапно появлялись апоморфные черты строения, характеризующие различные ветви многоклеточных животных: внеклеточный матрикс (у всех Metazoa), гаструляция (начиная с книдарий, т.е. у всех Eumetazoa), мезодерма (у Bilateria), радиальное дробление и энтероцелия у вторичноротых; локомоторные придатки сегментов – у членистоногих и многоножек, склеротизация кутикулы у артропод (Valentine, Hamilton, 1997). Наиболее заметная апоморфия Eumetazoa – наличие эпителиальных слоев клеток со специализированными зонами межклеточных контактов, базальной пластинкой и соответствующими молеку-

лярными характеристиками (Nielsen, 2012). Группа Acoelomorpha, которая включает представителей Acoela, Nemertodermatida и Xenoturbellida, характеризующихся первичным отсутствием сквозного кишечника, рассматривается как сестринская по отношению к Eubilateria. Апоморфные признаки Eubilateria – кишечная трубка с ротовым и анальным отверстиями, отчетливо выраженный мозг на переднем конце тела и молекулярные характеристики *Hox*-кластера (Nielsen, 2012).

Большинство эволюционных ветвей высокого ранга характеризуются синапоморфными инновациями; для самых высоких таксономических рангов новшеством можно считать характерный для них план строения тела с такими особенностями, как экзоскелет членистоногих и эндоскелет позвоночных (Arthur, 2008). Синапоморфными инновациями плана строения стали сегментация и появление вентрального нервного тяжа у аннелид, сегментация тела, образование придатков сегментов, вентральный тяж нервной системы у членистоногих, независимо появившаяся сегментация, сомиты, жаберные щели, спинная нервная трубка у хордовых, появление челюстей у позвоночных (Kirschner, Gerhart, 2005). Сегментация характерна для типов Annelida, Arthropoda и Chordata (Nielsen, 2012).

Важнейшие эволюционные приобретения Metazoa можно рассматривать как ароморфозы (по Северцову, 1939, 2012). Б. Холл (Hall, 1998, 2000, 2008) полагает, что позвоночные животные стали четырехслойными в результате приобретения нервного гребня в качестве четвертого зародышевого листка. Развивая идею Холла, мы рассматриваем в качестве четвертого зародышевого листка позвоночных и всех хордовых животных нейральную пластинку вместе с прилегающим материалом нервного гребня. Формирование полой нервной трубки и нервного гребня – ароморфная эволюционная инновация хордовых, обеспечившая возникновение небывалого нейрогенного клеточного ресурса – избытка нейробластов с многократным увеличением массы мозга, возможностью отбора на клеточном уровне и быстрой эволюцией мозга (Isaeva, 2016).

В ходе индивидуального развития представителей крупных таксонов многоклеточных животных последовательно появляются характеризующие их синапоморфные черты строения: у Bilateria – три зародышевых листка, билатеральная симметрия, сквозная кишка, центральная нервная система и парные органы чувств, сегментация, циркуляторная система; у артропод – склеротизация кутикулы, локомоторные придатки сегментов; у вторичноротых – радиальное дробление и энтероцелия; у хордовых – сомиты, жаберные щели, спинной нервный ствол (Valentine, Hamilton, 1997; Holland, 1998; Kirschner, Gerhart, 2005; Serrelli, Gontier, 2015).

Стадия развития, на которой впервые проявляются черты плана строения тела, характеризующие данный крупный таксон, была названа филотипической. Концепция высоко консервативной филотипической стадии, которую проходят все представители какого-либо типа, была предложена

Геккелем (см. Nielsen, 2012). Холл рассматривает филотипическую стадию как физическое воплощение связи между онтогенезом и филогенезом (Hall, 1997). Слэк с соавторами (Slack et al., 1993) полагают, что до наступления филотипической стадии завершаются основные морфогенетические движения и локализация зачатков. На этой стадии все представители данного таксона проявляют максимальное сходство, ее консервативность авторы объясняют пиком экспрессия *Hox*-генов в этот период (Slack et al., 1993). Например, филотипическая стадия насекомых характеризуется завершением сегментации зародышевой полоски.

Филотипическая стадия развития позвоночных, фарингула (Ballard, 1976, 1981) характеризуется присутствием нотохорда, дорсального нервного ствола и жаберных щелей. Эти же черты Киршнер и Герхарт считают общими признаками филотипической стадии всех хордовых (Kirschner, Gerhart, 2005), иначе говоря, синапоморфоными признаками хордовых. Эволюционный консерватизм филотипической для хордовых стадии фарингулы, на которой впервые появляются характерные для них черты плана строения тела, вероятно, обусловлен сложностью и консерватизмом взаимозависимых генных регуляторных сетей (Onai et al. 2014). У исследованных представителей позвоночных на стадиях развития от нейрулы до поздней фарингулы найдено наибольшее сходство транскриптомов, т.е. выявлен наиболее консервативный паттерн генной экспрессии по сравнению с другими стадиями, что соответствует филотипическому периоду развития (Irie, Kuratani, 2011). Таким образом, филотипический период развития позвоночных может быть расширен от нейрулы до фарингулы. Этот период развития не мог быть утрачен вследствие его важнейших морфогенетических функций – неразрывно связанных, коррелятивно сцепленных индукционных взаимодействий.

Ключевую роль в биологическом морфогенезе играют преобразования симметрии; их значение велико в индивидуальном развитии и эволюционных процессах (Bouligand, 1996; Minelli, 2003; Hirokawa et al., 2009; Li, Bowerman, 2010; Beloussov, 2012; Белоусов, 2013; Исаева, 2013; Isaeva, 2014a). В ходе индивидуального развития и эволюции многоклеточных животных наблюдаются сложные и закономерные изменения симметрии их тела с переходом к диссимметризации, понижению порядка симметрии (Беклемишев, 1964; Minelli, 2003; Урманцев, 2007; Beloussov, 2012; Белоусов, 2013). Преобразования симметрии на клеточном уровне в ходе оогенеза и раннего развития определяют основные оси будущего организма, тогда как в последующем развитии масштаб преобразований симметрии уменьшается. Число рассматриваемых типов симметрии расширяется; помимо таких классических форм симметрии, как поворотная (радиальная), зеркальная (билатеральная) и переносная (трансляционная) симметрия в биологическом морфогенезе проявляется масштабная симметрия, или симметрия подобия (см. главу 10).

Морфогенетические механизмы эволюционных преобразований

Эволюция клеточных механизмов морфогенеза рассмотрена в работах В.Н. Беклемишева (1925), В.А. Догеля (1928), О.М. Ивановой-Казас (1995, 1997), Ю.В. Мамкаева (2004, 2009). В этих исследованиях были установлены общие закономерности морфогенетических процессов. Беклемишев (1925) различал два способа эмбриогенеза, – путем эпителизации и путем малоклеточности. Эмбриональный эпителий – функциональная структура, обеспечивающая простой и изящный способ гаструляции сравнительно с перестройкой плотного комплекса клеток (Беклемишев, 1925; Мамкаев, 2004). Иванова-Казас (1995) рассматривала переход от иммиграции клеток к инвагинации в ходе бластуляции и гаструляции как онтогенетическую рационализацию. У большинства животных со спиральным дроблением наблюдается альтернативный клеточный механизм морфогенеза – уменьшение числа клеток, облегчающее перемещение бластомеров и пространственное распределение зачатков (Мамкаев, 2004).

Еще К.Э. фон Бэр обратил внимание на онтогенезы с точки зрения инженера-строителя (Бэр, 1924; см. Мамкаев, 2009). Ю.В. Мамкаев (2004, 2009) привлек дополнительное внимание к эволюционному значению морфогенетических механизмов, в частности, к формообразовательному значению эпителиальных и малоклеточных («телобластических») морфогенезов, к локальным очагам пролиферации, тканевым системам с вынесенным (внешним) камбием, а также разрушению клеток при формировании некоторых органов и систем. Мамкаев рассматривал формообразовательные механизмы как «технологии строительства», оказывающие существенное влияние на строение дефинитивных форм. Формообразующая роль морфогенезов на основе малоклеточных зачатков охарактеризована Мамкаевым как рационализация формообразования, причем у аннелид, членистоногих и хордовых процессы сегментации становятся ритмическими, «квантованными». Многие формы, образовавшиеся в результате использования тех или иных «биотехнологий» развития, не имея прямого адаптивного значения, могут приобретать его впоследствии (Мамкаев, 2004, 2009).

Принципиальный вывод о морфогенетических механизмах эволюционных преобразований сформулирован в работах Жакоба и Гулда (Jacob, 1977; Gould, 1997). Эти авторы обосновали вывод о том, что эволюционные «биотехнологии» несовершенны, и эволюция преобразует уже существующий материал, приспосабливая его к новым функциям.

Неоднократно подчеркивалось значение морфогенетической гибели клеток (см. Дьюкар, 1978; Гилберт, 2010; Davies, 2013). Эволюционные механизмы индивидуального развития не исчерпываются клеточным и тканевым уровнями. Широкий подход к объяснению эволюционных механизмов индивидуального развития вовлекает понятия гомологии, гомоплазии, параллелизмов, конвергенций, реверсий, атавизмов (Hall,

2003). Следует отметить восходящие к Э. Геккелю определения гомологии и аналогии, а также гомоплазии, параллелизма и конвергенции: «Гомология есть сходство, унаследованное от общего предка»; «Гомоплазия есть сходство, не унаследованное от общего предка»; «Параллелизм есть развитие сходных признаков независимо в двух или более линиях общего предка, обусловленное природой этого предка или процессами канализации развития»; «Конвергенция есть развитие сходных признаков независимо в двух или более линиях вне связи с общим предком, но вследствие адаптации к одинаковым экологическим условиям» (цит. по: Захаров-Гезехус, 2008).

При таком подходе к анализу эволюционных изменений существенное значение имеет иерархия механизмов, обеспечивающих эти преобразования. Представленные в таблице 1 данные свидетельствуют об участии в эволюционных преобразованиях онтогенеза множества регуляторных механизмов на различных уровнях организации (Hall, 2003).

Таблица 1.
Иерархия механизмов, обеспечивающих преобразования онтогенеза на различных уровнях организации (Hall, 2003)

Уровни	Механизмы
Генетический	генные сети, взаимодействия, размер генома, эпигенетические процессы
Клеточный	деление, миграция, конденсация, дифференцировка, взаимодействие, паттернинг, морфогенезы, эмбриональная индукция
Тканевой, органный	модулярность, сегментация, эмбриональные индукции эпителиально-мезенхимные взаимодействия, рост
Организменный	онтогенетический ре-паттернинг, генетическая ассимиляция, фенотипическая пластичность, полиморфизм, функциональная морфология

Таблица 2.
Структуры и процессы, лежащие между генотипом и фенотипом: механизмы эволюционных преобразований онтогенеза (Hall, 2003)

Структуры и процессы	Основа механизмов evo-devo
Генотип	Гены
Генетические модули	генные сети, генные каскады
Единицы морфогенеза	клеточные ассоциации
Эпигенетические процессы	эмбриональная индукция, тканевые взаимодействия, функциональная интеграция
Фенотип	Внутривидовые и межвидовые взаимодействия, взаимодействия со средой

При изучении основных проблем эволюционной биологии развития стало общепринятым, что понимание механизмов взаимодействия онтогенеза и филогенеза связано с анализом процессов, лежащих между генотипом и фенотипом. Важное методологическое значение для такого анализа отводится классификации этих явлений (Hall, 2003) (табл. 2).

Поскольку онтогенез контролируется генетической программой, существенные изменения которой зависят от эффекта регуляторных генов с функциями переключателей между альтернативными состояниями, возможны относительно быстрые (в геологическом масштабе времени), резкие эволюционные изменения (Gould, 2002; Kirschner, Gerhart 2005; Корочкин, 2002а, б). Эволюционные изменения развития в зависимости от их масштаба могут быть сведены к двум основным типам, ведущим к возрастанию разнообразия. Первый тип – макроэволюционные изменения как ключевые апоморфии (гомологичные производные признаки) (Benton, Harper, 2009; Serrelli, Gontier, 2015), крупные эволюционные инновации (Рэфф, Кофмен 1986; Kirschner, Gerhart 2005; Müller, 2008; Wainwright, 2009), ароморфозы (Северцов, 1939, 2012). Такого рода изменения представлены, например, возникновением новых зародышевых листков, билатеральной симметрии, метамерии, формированием осевой системы органов, внутреннего скелета. Другой тип эволюционных преобразований развития – постепенная детализация и модификация существующего плана строения животного, сопровождающаяся появлением новых функций (Kirschner, Gerhart 2005; Müller, 2008; Wainwright, 2009). Пример такого рода преобразований – эволюция морфогенеза конечностей позвоночных, в формировании разнообразия строения которых ведущим механизмом являются гетерохронии развития (Воробьева, 2010а, б).

Ключевые макроэволюционные новшества дают прорыв в организации плана строения тела и могут привести к достаточно радикальным последствиям, обеспечивающим приобретение животными нового жизненного пространства и последующую диверсификацию с возможностью эксплуатации новых ресурсов, новой среды обитания, новых типов питания (Kirschner, Gerhart 2005; Wainwright, 2009; Minelli, 2015a, b). Крупномасштабные морфологические изменения в процессе эволюции, в результате которых появляются новые структуры, находят свое отражение в палеонтологической летописи. К этой группе эволюционных новшеств относятся, например, конечности тетрапод, крылья птиц, яйца амниот; к эволюционным новшествам относится также появление новых физиологических систем, например, возникновение в процессе эволюции гомойотермии теплокровных животных, молочных желез млекопитающих (Рэфф, Кофмен, 1986).

При существенных изменениях предкового типа развития возможна рекапитуляция отдельных стадий развития предка, примерами которой могут служить зачатки жаберных щелей у позвоночных, хвостатые ли-

чинки асцидий, личиночные стадии развития паразитических моллюсков и ракообразных (Иванова-Казас, 1995). Рекапитуляция в соответствии с законом зародышевого сходства наблюдается в развитии многих таксонов и отражает консерватизм некоторых общих черт эволюции онтогенеза (Valentine, Hamilton, 1997; Raff, Raff, 2009). Поскольку в процессе развития осуществляются морфогенетические взаимодействия частей зародыша, важные для его формообразования зачатки сохраняются и после утраты соответствующих органов взрослого животного.

При огромном разнообразии типов строения животных и их морфогенезов в эволюции, помимо непрерывных изменений, всегда проявляется консерватизм, инвариантность плана строения, а в пределах каждого таксона – дискретность устойчивых состояний (Том, 2002; Белоусов, 2005). Представление о плане строения включает концепцию архетипа, развитую Гете, Сент-Илером, Оуэном, который рассматривается как абстрактный, виртуальный прообраз, единый для представителей каждого крупного таксона животных и включающий общие черты развития, характерные для этого таксона (см. Valentine, Hamilton, 1997; Gould, 2002; Дондуа, 2005). К примеру, для воссоздания архетипа вторичноротых животных можно рассматривать диплеврулу с тремя парами целомических мешков, соответствующих целомам полухордовых и низших хордовых (Беклемишев, 1964). План строения эволюционирует путем отбора среди альтернативных наследственных вариаций, которые определяют направление морфофизиологических изменений, проявляющихся в репродуктивном успехе (Valentine, Hamilton, 1997).

Таким образом, более широкий взгляд на анализ механизмов evo-devo дает возможность сформулировать новый круг задач эволюционной биологии, включающих происхождение и эволюцию эмбрионального развития и адаптивную пластичность онтогенетических процессов.

Модульный принцип организации Metazoa

Модульный принцип давно применяется для анализа строения и функционирования живых систем. Он используется для исследования различных биологических процессов и явлений, прежде всего, эволюционных и онтогенетических преобразований на разных уровнях организации (Вавилов, 1920; Догель, 1954; Уголев, 1988, 1994; Dyke, 1988; Марфенин, 1999, 2008; Taylor, 2002; Трифонов, Березовский, 2002; Инге-Вечтомов, 2004; Гилберт, 2010). Важнейшей особенностью данного подхода является диссоциируемость компонентов модульной организации биологических процессов, что служит необходимым условием их комбинаторики и эволюционных преобразований.

Модулярность рассматривается как принцип эволюции, в соответствии с которым новые сложные структуры могут возникать путем комбинато-

рики уже существующих модулей, входящих в интегрированный комплекс организма и служащих единицами эволюционных и онтогенетических преобразований (Dyke, 1988; Гилберт, 2010). Таким образом, принцип модулярности можно рассматривать как инструмент эволюционных преобразований живых систем. С.Г. Инге-Вечтомов (2004) отметил, что идея модульного принципа организации биологических систем восходит к закону гомологических рядов наследственной изменчивости Н.И. Вавилова (1920). Поиск общих закономерностей модулярной организации проводился в различных областях биологии: в морфологии и систематике растений и животных, физиологии, молекулярной биологии.

В зоологии принцип модульной организации связан с представлениями о метамерии как разделении тела некоторых организмов на метамеры (Догель, 1954); использованы и более широкие понятия полимеризации и олигомеризации. Многие эволюционные преобразования плана строения связаны, как известно, с умножением частей тела, полимеризаций, что создает определенную избыточность элементов и делает возможной их дивергенцию и последующую олигомеризацию, лежащую в основе прогрессивной эволюции многих Metazoa (Догель, 1954; Дондуа, 2005). Модульный принцип применен также к анализу строения колониальных беспозвоночных животных как «модульных организмов», для которых характерен повторяющийся морфогенез, обеспечивающий полимеризацию на уровне организма (Марфенин, 2008).

В физиологии А.М. Уголевым (1988, 1994) была сформулирована концепция функциональных блоков организма (эргомов). Согласно этой концепции, различные функции, выполняемые клетками разных тканей высших организмов, складываются из элементарных функций, которые реализуются определенными комбинациями ограниченного числа функциональных блоков – молекул или молекулярных комплексов. Эти блоки (в сущности, модули), сочетаясь между собой и распределяясь в разных количественных соотношениях в тех или иных компартментах клеток и органов, обеспечивают их специализацию. Из концепции А.М. Уголева следует, что эволюция одноименных структур и функций связана с перераспределением функциональных блоков, которые близки или идентичны у организмов, стоящих на разных уровнях эволюционного развития.

Модулярный принцип применялся также в молекулярной биологии для анализа структуры макромолекул, прежде всего, белков. Тейлор (Taylor, 2002) сформулировал идею «периодической таблицы» для белковых структур, в основе которой лежит доменный принцип формированная структурных блоков (на уровне вторичной и третичной структуры макромолекул). Э.Н. Трифонов и И.Н. Березовский (2002) ввели понятие «протеомного кода» – набора структурных элементов аминокислотных последовательностей типа «петля-замок», что позволяет, по мне-

нию авторов, по-новому рассматривать принципы формирования пространственной структуры белков.

В эволюционной биологии развития концепция модулярности базируется на открытии дискретных автономных единиц эмбрионального развития, например, у зародышей морских ежей и независимости развития определенных частей зародыша (Рэфф, Кофмен, 1986; Raff, Wray, 1989; Raff, Sly, 2000; Hinman et al., 2003; Raff, Raff, 2009). Согласно этой концепции, онтогенез состоит из множества относительно независимых процессов, способных к разобщению и изменениям; отдельные элементы развивающегося организма также представлены диссоциируемыми модулями (Gould, 1977, 2002; Shubin, 1998; Raff, Sly, 2000; Minelli, 2003; Гилберт, 2010). Диссоциируемые процессы онтогенеза, подобные дискретным модулям, способны изменяться, мало затрагивая при этом другие события онтогенеза; отдельные модульные структуры зародыша также способны к независимому изменению. Гулд (Gould, 1977, 2002) применил сформулированный ранее Нидхемом (Needham, 1933) принцип диссоциабельности как относительной независимости скоростей достижения половой зрелости и развития соматических признаков, а также отдельных структур и признаков.

Относительная автономия, модулярность отдельных стадий и процессов развития дает возможность формирования в ходе эволюции животных разнообразных планов строения и типов развития. Модулярность и повторяемость элементов создает основу для дивергенции с сохранением прежних функций и приобретением новых, что служит фундаментом эволюционных изменений любого масштаба. Диссоциируемость модулей в процессе развития и их рекомбинация ведут к эволюционным преобразованиям онтогенеза с дупликациями и последующей дивергенцией, вставками, делециями, замещением и трансформацией этапов развития, модификациями развития во времени (гетерохрониями) и пространстве (гетеротопиями) – путем «эволюционного вырезания и склеивания» (Shubin, 1998).

Определены три основных способа эволюционных преобразований онтогенеза: диссоциация (разобщение) событий и процессов индивидуального развития во времени и пространстве, дупликация и умножение частей с последующей дивергенцией, а также кооптация существующего признака для формирования новой структуры или новой функции (Raff, Sly, 2000).

Таким образом, гетерохронии как временно́й сдвиг событий между предком и потомком, а также гетеротопии как пространственное изменение формирования тех или иных структур – следствие диссоциации и эволюционных преобразований развития (Gould, 1977, 2002; Рэфф, Кофмен, 1986; McNamara, 1986; Raff, Sly, 2000; Kirschner, Gerhart, 2005; Wagner et al., 2005; Müller, 2008; Гилберт, 2010; Озернюк, 2014; Ozernyuk,

2015; Minelli, 2015a). Пространственная и временна́я модулярность организмов – важный аспект развития и эволюции, существенный для понимания преобразований онтогенеза. Выявлена также модулярная архитектура генных регуляторных сетей, контролирующих пролиферацию, миграцию, гибель и дифференцировку клеток (Erwin, Davidson, 2009; Peter, Davidson, 2011).

Примеры структурных модулей раннего развития – бластомеры, клеточные линии, зародышевые листки, морфогенетические поля как территории генной экспрессии. В частности, для полиэмбрионии характерна многократная повторяемость стадии дробления, т.е. бесполое размножение на ранней эмбриональной стадии. Полиэмбриония как вставка бесполого размножения, бластогенеза в процесс раннего развития изменяет характер эмбриогенеза на стадии дробления и разрушает относительный консерватизм раннего эмбрионального развития.

В более позднем развитии структурные модули развивающегося организма представлены такими повторяющимися частями, как сегменты кольчатых червей и членистоногих, имагинальные диски насекомых и других билатеральных животных, почки конечностей, сомиты, зачатки зубов позвоночных (Raff, Sly, 2000; Winther, 2005; Baguña et al., 2008). Согласно Холлу (Hall, 2000, 2008), мезодерма и нервный гребень представляют собой вторичные зародышевые листки. Минелли (Minelli, 2003) предполагает, что конечности позвоночных – эволюционные дупликаты основной оси тела, лишенные энтодермы. Структурно-функциональные модули служат строительными блоками организма, например, сегменты с осевыми структурами и придатками; более крупные модули (тагмы) членистоногих – торакс, абдомен (Wagner et al., 2005; Winther, 2005). Модульная организация при двух возможных сценариях эволюции метамерии схематически изображена на рис. 7.

Морфологическое разнообразие в пределах типа членистоногих – следствие вариабельности числа сегментов, паттерна тагм, специализации сегментов и их придатков. Предполагается, что разнообразие членистоногих

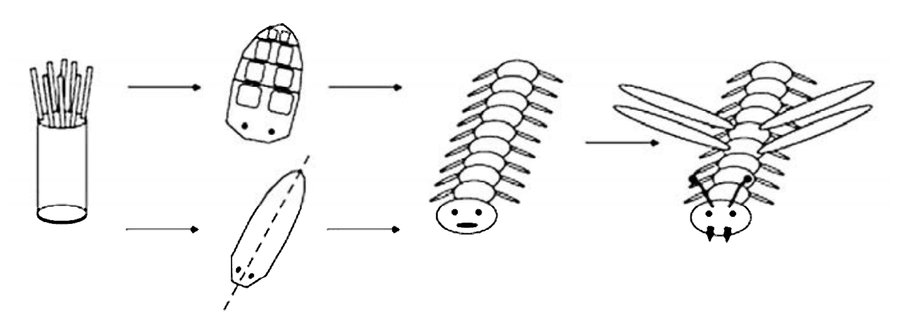


Рис. 7. Схема возникновения и преобразования метамерной организации билатеральных животных (по Baguña et al., 2008, с изменениями).

связано с наличием экзоскелета, доводящего модулярность плана строения до крайней степени, недоступной для мягкотелых форм (Valentine, Hamilton, 1997). В ходе возникновения и эволюции конечностей Tetrapoda модулярность их скелетных элементов проявлялась, в частности, в виде неоднократного возникновения полидактилии и полифалангии (Wimsatt, 2007; Ahlberg, 2003, 2008) (рис. 8).

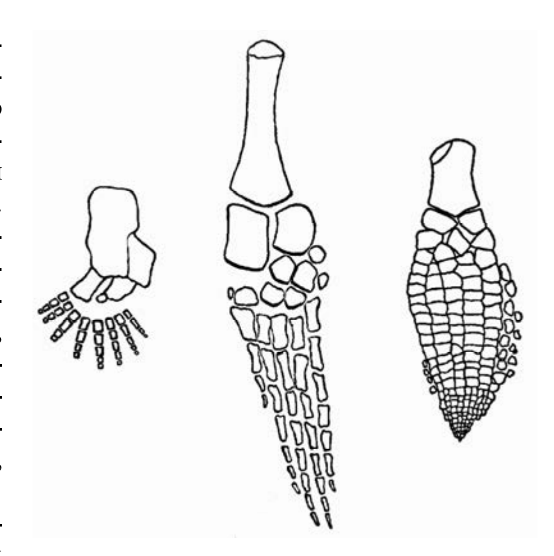


Рис. 8. Полидактилия и полифалангия конечностей ископаемых Tetrapoda: Acanthostega, Taumatosaurus, Ichtyosaurus (слева направо) (по Ahlberg, 2003; Wimsatt, 2007).

Модулярность повсеместна: организм высших животных построен модулярным образом; картирование генотип-фенотип модулярно; механизмы развития включают модулярные единицы, подобные элементам детского конструктора (Kirschner, Gerhart, 2005). В эволюции онтогенезов стандартные элементы используются неоднократно, новые гены не создаются каждый раз при изменении развития, происходит модификация относительно малого числа регуляторных генов (Raff, Sly, 2000). Умножение, полимеризация гомологичных частей тела выделена Догелем (1954) в качестве одного из важных принципов эволюционных преобразований плана строения животных.

Таким образом, пространственная и временна́я модулярность организмов – важный аспект индивидуального развития и эволюционной динамики, существенный для понимания эволюционных преобразований онтогенеза, включая гетерохронии и гетеротопии (Gould, 1977, 2002; Raff, Sly, 2000; Wagner et al., 2005; Minelli, 2015a).

Морфоцентрический и геноцентрический подходы

До середины XX века в эмбриологии доминировал морфоцентрический подход. Сравнительная и эволюционная эмбриология, созданные на основе изучения строения развивающихся организмов, став самостоятельными разделами науки об индивидуальном развитии, послужили также (вместе со сравнительной анатомией и палеонтологией) фундаментом эволюционного учения.

Уже в 20-е – 30-е годы прошлого столетия, в эпоху доминирования морфоцентрических подходов в изучении индивидуального развития, высказывались идеи о решающей роли генов в регуляции онтогенетических процессов. Н.К. Кольцов в своих работах (1935а, б) подчеркивал важность генетической регуляции индивидуального развития. Р. Гольдшмидт (Goldschmidt, 1938) придавал первостепенное значение генам, которые, как он считал, определяют не только скорость тех или иных реакций и процессов в организме, но и начало определенных морфогенетических процессов. Фундаментальная концепция роли генов в индивидуальном развитии была сформулирована, как известно, Т. Морганом: формообразовательные процессы контролируются генами и их продуктами, а взаимодействие последних определяет, в конечном счете, специфику морфогенезов (Морган, 1936).

Развитие молекулярно-генетических подходов в различных областях биологии, включая эмбриологию и эволюционную биологию, существенно изменило представления об эволюции онтогенетических процессов. Доминирование геноцентрического подхода дало возможность установить основные механизмы генетического контроля процессов развития и, прежде всего, выявить особенности регуляции плана строения развивающихся организмов, от простейших многоклеточных животных до млекопитающих.

Сущность геноцентрического подхода состоит в исследовании генетической регуляции процессов развития и сравнении геномов организмов различного эволюционного статуса. Доминирующая ныне геноцентрическая позиция проявляется, в частности, в рассмотрении эволюционного процесса как последовательных изменений генетических программ развития и морфологического разнообразия современных билатеральных животных – как результата эволюции на уровне программ развития (см. Davidson, 2006; Carroll, 2008; Корчагина и др., 2010). Современная эволюционная биология развития и неодарвинизм занимают преимущественно геноцентрическую позицию, помещая генную регуляцию в центр объяснений онтогенетических и эволюционных событий, что можно рассматривать как редукционистский подход (Müller, 2008; Hamilton, 2009; Воробьева, 2010а, б). Модельные системы биологии развития также выбраны в соответствии с генетической парадигмой (Jenner, 2008).

Согласно общепринятым представлениям, онтогенез контролируется генетической программой, в которой существенную роль играют гены с функцией переключателей между стадиями или альтернативными путями развития. Онтогенез конвертирует геномную информацию в фенотип, и его генеративные правила определяют соотношение между генотипом и фенотипом (Рэфф, Кофмен, 1986; Raff, Raff, 2009).

Геноцентрический подход позволил установить механизмы многих эволюционных взаимосвязей. По мнению большинства биологов разви-

тия (Рэфф, Кофмен, 1986; Дондуа, 2005 и др.), дефинитивная морфология и развитие животных эволюционирует на основе изменений генетических программ, контролирующих процессы развития и морфологические признаки организма. В крайней форме геноцентрический взгляд видит эволюцию живых форм как репликацию и совершенствование генов, а организмы – как носители, переносчики генов. Предельно выраженные геноцентрические представления формулируется Р. Докинзом в его книге «Расширенный фенотип: длинная рука гена», вышедшей в русском переводе в 2011 году. Согласно взглядам Докинза, фенотипический эффект гена выносится за пределы организма, включая, например, построенный личинкой ручейника домик, паутину паука, коллективно строящиеся муравейники, термитники, что и создает «расширенный фенотип».

Генотип организма определяет не только особенности его строения и метаболизма, но и основные черты поведения, прежде всего, у животных с детерминированным развитием и ограниченной способностью к обучению, например, у членистоногих. В частности, обнаружено четкое морфологическое различие строения нор у разных видов роющих ракообразных Японского моря (Корниенко, 2013). Генетическое программирование строения норы выявлено и у двух видов мышевидных грызунов рода *Peromyscus* (Weber et al., 2013; Callaway, 2013). Показано, что этот процесс контролируется тремя генетическими локусами, расположенными на трех разных хромосомах, тогда как создание дополнительного туннеля с запасным выходом из норы зависит от еще одного локуса, локализованного на другой хромосоме (Weber et al., 2013; Callaway, 2013).

Согласно канонической точке зрения, единицей дарвиновского отбора являются индивиды многоклеточных организмов (Gould, 1977). В настоящее время развивается концепция эволюционного отбора на многих уровнях, включающих как генные системы и организмы, так и клетки организма, а также группы многоклеточных организмов (Buss, 1987; Gould, 2002; Kirschner, Gerhart, 2005). Докинз (2011) считает единицами отбора лишь гены, полагая, что организмы служат их временными хранилищами и «транспортными средствами» генов-репликаторов.

Другая крайность – полностью морфоцентрический взгляд на эволюцию организмов и их онтогенеза, последовательно развернутый, например, в книге Г.П. Коротковой (1979). Интегрированный подход к проблемам биологии развития состоит в выявлении основных типов морфогенеза и его возможных модуляций, т.е. исследовании не только генетического программирования, но и его развертывания в процессе развития. В современной биологии кристаллизуется новая парадигма эволюции, включающая признание важной роли эпигенетических факторов и механизмов. Согласно этой концепции, гены в развитии многоклеточных животных представляют собой инструменты, для функционирования которых необходимы эпигенетические инструкции; именно эпиге-

нетическая информация дополняет регуляцию на уровне дифференциальной активности экспрессии генов (Cabej, 2012). Эпигенетические механизмы, включающие метилирование ДНК, модификации гистонов, микроРНК и РНК-интерференцию, принимают участие в регуляции репликации и репарации ДНК, транскрипции и трансляции, сборке нуклеосом, защите генома от чужеродных элементов и в других важнейших внутриклеточных процессах.

Следует отметить, что роль эпигенетических факторов в эволюционных процессах постулировалась значительно раньше. Эти идеи восходят к трудам И.И. Шмальгаузена (1946), К. Уоддингтона (1953), Э. Майра (1968), заложившим основы эпигенетической теории эволюции. Данная проблема анализируется и в настоящее время (Шишкин, 2006, 2010; Rasnitsyn, 2015). Однако противопоставление эпигенетической теории эволюции современной генетической (синтетической) эволюционной теории и представление об их несовместимости (Шишкин, 1988, 2006) выглядит недостаточно конструктивным.

Связь между генами и фенотипом опосредована сложными взаимодействиями генных продуктов, клеток и клеточных систем в процессах онтогенеза. Нелинейная сеть сигнальных систем, транскрипционных регуляторов и последующих событий на уровне клеточных систем вовлекает плейотропию, процессы самоорганизации и влияние факторов внешней среды, в том числе физические воздействия (Wilkins, 2002; Beloussov, 2012). В эволюции идет селекция вариантов фенотипа, включающих все черты строения и функционирования организма, а не просто последовательностей ДНК (Шмальгаузен, 1983; Kirschner, Gerhart, 2005; Воробьева, 2010а, б). Э.И. Воробьева (2010а, б) справедливо полагает, что фенотипический подход к оценке эволюционных событий в онтогенезе позволяет объединить генетический и эпигенетический уровни исследования и представляется наиболее перспективным для эволюционной биологии развития.

Поскольку геном организма Metazoa не способен функционировать и эволюционировать вне фенотипической «оболочки», остается принять постулат эволюционного отбора целостного комплекса генотип-фенотип, уже созданного эволюцией, который продолжает подвергаться изменениям и отбору на всех стадиях онтогенеза многоклеточного организма.

Глава 2. ПАЛЕОНТОЛОГИЧЕСКИЕ СВИДЕТЕЛЬСТВА ЭВОЛЮЦИОННЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ ОНТОГЕНЕЗА

В понимании филогенетических закономерностей преобразований онтогенеза важную роль играют результаты палеонтологических исследований, позволяющие сравнивать онтогенез вымерших таксонов с развитием современных животных. Интеграция данных палеонтологии, эмбриологии и молекулярной биологии с эволюционной биологией развития дает новую основу для понимания эволюции онтогенеза и интерпретации статических морфологических данных об ископаемых остатках как записи преобразований онто- и филогенеза (Hall, 1998; Arthur, 2002; Gould, 2002; Carroll, 2008; Müller, 2008; Benton, Harper, 2009; Donoghue et al., 2015).

Палеонтологические сведения дают информацию о морфопространстве организмов (Gould, 2002) и онтогенетических изменениях животных вымерших таксонов, позволяющие сравнивать эти изменения с развитием ныне живущих представителей (Müller, 2008). Палеонтологические свидетельства эволюционных трансформаций включают данные о ранних стадиях развития некоторых беспозвоночных (Bengtson, Zhao, 1997; Chen et al., 2000; Müller, 2008; Nielsen et al., 2012; Donoghue et al., 2015) и эмбриональном развитии динозавров (Carpenter et al., 1996). Палеонтология дает также косвенные свидетельства гетерохроний и инноваций развития (McNamara, 1997; Vrba, 2003; Love, 2007; Müller, 2008). Способность эволюционировать анализируется на генетической основе как картирование генотипа в фенотип, с использованием концепций модулярности, пластичности, инноваций и ограничений развития (Kirschner, Gerhart, 1998, 2005; Arthur, 2002; Gould, 2002; Wagner et al., 2005; Benton, Harper, 2009; Minelli, 2015a).

При реконструкции эволюционной истории организмов используются данные сравнительной анатомии, сравнительной и эволюционной эмбриологии, палеонтологии, а также сравнительной геномики, транскриптомики и протеомики (сравнение нуклеотидных последовательностей ДНК, РНК и аминокислотных последовательностей белков). Плодотворный подход к установлению последовательности событий эволюции дает сопоставление двух основных документированных летописей жизни: палеобиологии (ископаемой летописи) и сравнительной геномики с ее биоисторическими реконструкциями (Федонкин, 2006). Анализ нуклеотидных последовательностей, открывая новые возможности эволюционного анализа, привел к созданию вариантов новой филогении, «филогеномики», не всегда совпадающих с традиционными представлениями сравнительных морфологов (см. Nielsen, 2012; Иванова-Казас, 2015a). Весьма перспективным направлением представляется сравнитель-

ная геномика как анализ целых геномов животных различных уровней организации (см. Srivastava et al., 2008, 2010; Srivastava, 2015).

Палеонтологическая летопись, по словам Ч. Лайеля, всегда неполна и подобна книге без начала, написанной на изменяющемся языке (смена биологических видов), с частично стертым текстом и вырванными страницами (см. Федонкин, 2006). Подобные дефекты отражения истории в разной степени присущи любой летописи, не исключая и сравнительную геномику (Федонкин, 2006). Старинная пергаментная летопись, включающая стертые и переписанные фрагменты, как известно, именуется палимпсестом. Эволюционная летопись – сложнейший, многослойный палимпсест.

Молекулярная эволюция не была равномерной во времени: скорость изменений последовательностей ДНК значительно варьировала как в разных таксонах, так и в пределах одного таксона (Ayala, 1997). Тем не менее, методы сравнительного анализа генома дают возможность построения филогенетической системы живого мира, выявляя связи ныне живущих организмов и даже определяя время расхождения эволюционных ветвей различного таксономического ранга (молекулярные часы), тогда как палеонтологическая летопись, датированная радиометрическими методами, позволяет «калибровать» молекулярные часы (Федонкин, 2006; Benton, Harper, 2009).

Таким образом, современные подходы дают возможность датировать важнейшие эволюционные события не только по геномным молекулярным часам и по относительной шкале геологического времени, но и по абсолютной, основанной на радиометрических данных, в связи с реальным геологическим временем. Палеонтологические свидетельства эволюционных преобразований оказались востребованными одной из самых быстро развивающихся областей современного естествознания, и палеонтологическая летопись стала единственным критерием надежности результатов сравнительной геномики (Федонкин, 2006).

Интерпретация данных молекулярной биологии осложняется эволюционными событиями симбиогенеза, «горизонтальным» переносом генов, потерей и дупликациями генов и их кластеров и другими изменениями генома. У различных многоклеточных животных (нематод, насекомых, позвоночных, включая приматов и человека) найдены гены, исходно не принадлежащие Metazoa, и число таких заимствованных инородных генов составляет от десятков до сотен в геноме изученных видов (Crisp et al., 2015). По-видимому, горизонтальных перенос генов продолжает вносить некоторый вклад в эволюцию животных (Crisp et al., 2015).

Полагают, что последний общий предок всех ныне живущих прокариотических и эукариотических организмов – Bacteria, Archaea и Eukarya – уже существовал 3,5–4 миллиарда лет назад. Ключевыми событиями в

ранней истории биосферы были становление оксигенного фотосинтеза, происхождение эукариотической клетки и возникновение многоклеточных животных (Erickson, 2000; Kirschner, Gerhart, 2005; Федонкин, 2006; Benton, Harper, 2009). Линия грибов отделилась от линии растений и животных около 1,6 млрд. лет назад, многоклеточные животные появились не позднее 1,5 млрд. лет назад, первичноротые ответвились от линии, ведущей к хордовым, около 1,2 млрд. лет назад, а эволюционные ветви беспозвоночных и хордовых разошлись около 1 млрд. лет назад (Wray et al., 1996; Федонкин, 2006).

Известно, что эволюционные процессы происходят на трех разных уровнях: в пределах популяций (микроэволюция), эволюции подвидов и видов (видообразование), эволюции крупных групп – макроэволюции (Грант, 1980; Benton, Harper, 2009; Serrelli, Gontier, 2015). Под макроэволюцией понимаются изменения гораздо большего масштаба, чем происходящие при микроэволюции и видообразовании; макроэволюционные изменения включают развитие признаков, по которым различаются крупные таксоны (Serrelli, Gontier, 2015).

В течение нескольких последних десятилетий интенсивно развивались палеонтологические исследования макроэволюции (Benton, Harper, 2009), изучены новые локальные отложения, содержащие интереснейшие скопления окаменелостей (Gould, 1989; Bergström, 2003; Benton, Harper, 2009), например, в Британской Колумбии (Gould, 1989; Conway-Morris, 2003), Китае (Hou et al., 2004). Стала обозримой новая палеонтологическая панорама (Bergström, 2003).

Широко известен «кембрийский взрыв» в раннем палеозое (540-520 млн. лет назад), который в течение короткого в геологическом масштабе периода привел к появлению разнообразных планов строения тела животных и новых типов Bilateria, включающих аннелид, членистоногих и хордовых (Arthur, 2002; Gould, 2002; Kirschner, Gerhart, 2005; Benton, Harper, 2009; Deutsch, 2010). В результате «кембрийского взрыва» возникли основные типы современных животных, что предположительно было обусловлено перестройками генных регуляторных каскадов (Hall, 1998; Conway-Morris, 2003; Kirschner, Gerhart, 2005; Deutsch, 2010; Ferrier, 2010; Schierwater, Kamm, 2010).

Молекулярные часы, построенные на основании сравнительного исследования генов рибосомной 18S РНК, *Hox*-генов, других контролирующих развитие генов и нескольких кодирующих белки генов, свидетельствуют о докембрийском расхождении основных ветвей многоклеточных животных. Обнаружение и изучение кембрийских отложений Канады (Burgess Shale), Швеции (Orsten), Китая (Chengjiang) дали множество сведений о докембрийских и кембрийских животных (Conway Morris, 1998; Gould, 1989; Briggs et al., 1994; Bergström, Hou, 2003; Waloszek, 2003; Hou et al., 2004). Некоторые обнаруженные отложения содержат не только раковины

и скелеты, но и минерализованные остатки мягких тканей животных, дающие возможность визуализации гистологических и клеточных структур (Bergström, 2003).

Найдены кембрийские и докембрийские окаменелости Cnidaria (включая предполагаемых сцифомедуз и гидромедуз), Porifera, Mollusca, Bryozoa, Brachiopoda, Arthropoda, Onychophora, Priapulida, Echinodermata, Chordata и других групп (см. Nielsen, 2012). «Карнавальное шествие» эволюции (Gould, 1989) включало появление и исчезновение множества животных почти невероятной и непредсказуемой морфологии. Животные кембрия и непосредственно предшествовавшего ему эдиакария были небольшими существами, жившими на морском дне, нередко фантастического облика. В кембрийских отложениях, в частности, в Канаде (Burgess Shale), найдены животные, которых нельзя поместить ни в один таксон ныне живущих организмов (Gould, 1989); некоторые авторы рассматривают их как представителей отдельного царства, Vendobionta (см. Seilacher, 2007; Nielsen, 2012). План строения этих существ возникал в результате эволюционных «экспериментов» с различными, независимыми решениями проблем морфогенеза, в частности проблемы приобретения дополнительной поверхности при увеличении размера; в таких эволюционных экспериментах были испытаны различные направления и возможности преобразования многоклеточных животных (Seilacher, 1984, 2007; Gould, 1989).

Отдельным докембрийским билатеральным многоклеточным была присуща особая форма симметрии с чередующимся расположением поперечных структурных элементов, с их взаимным смещением (Иванцов, 2008), т.е. скользящая трансляционная симметрия (рис. 9). Иванцов (2008) относит изображенных на этом рисунке *Dickinsonia* и *Yorgia* к таксону Proarticulata. *Dickinsonia* была отнесена и к Annelida, а также интерпретирована как представитель Placozoa, сходный с ныне живущим трихоплаксом (Sperling, Vinther, 2010), хотя какие-либо проявления сегментации у *Trichoplax* отсутствуют (см. Nielsen, 2012). *Dickinsonia* же была сегментированной, метамерной. Сегментированность многих вендских билатерий, возможно, свидетельствует об одновременном формировании билатеральной симметрии и метамерии (Федонкин, 1985; Малахов, 2004); сегментация могла возникать неоднократно и независимо в разных группах животных.

Сегментация Bilateria базируется на трансляционной симметрии (симметрии переноса) с повторением сегментов вдоль оси тела (Minelli, 2003). Этот перенос может быть продольным скользящим отражением, как, например, у побегов растений и некоторых вымерших билатеральных животных (Gould, 1998; Manuel, 2009; Заренков, 2009). Разнообразные проявления симметрии вымерших организмов включали, помимо упомянутой скользящей трансляционной симметрии, например, у докемб-

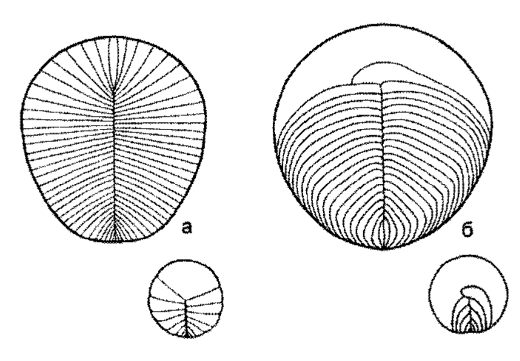


Рис. 9. Скользящая трансляционная симметрия взрослых и ювенильных представителей докембрийских животных: а – *Dickinsonia costata*; б – *Yorgia waggoneri* (Иванцов, 2008).

рийской проартикуляты *Yorgia waggoneri* (Иванцов, 2008), также спиральную и масштабную (фрактальную) симметрию (рис. 10).

В эволюции происходило постоянное вымирание многих видов и временами – массовое вымирание животных и растений (Erickson, 2000; Benton, Harper, 2009). Так, к началу кембрия вымерли почти все вендские животные. Резкое вымирание пермской фауны вовлекло более 95% известных видов и оценивается как исчезновение половины морских организмов, 75–80% семейств амфибий и рептилий (Erickson, 2000). Палеонтологи нередко приходили к мысли об эволюционных скачках (например, Красилов, 1986; Theißen, 2009). Дж. Симпсоном (1948) разработана теория квантованной эволюции, происходящей при освоении новых жизненных сфер, или адаптивных зон – суши, глубин океана, когда происходит ослабление конкуренции, раскрепощение скрытой изменчивости и преимущество оказывается на стороне видов с пионерными свойствами.



Рис. 10. Симметрия вымерших организмов: а – скользящая трансляционная; б –спиральная трехлучевая; в – фрактальная симметрия (по: Gould, 1989, с изменениями).

Разработанные критерии прогрессивной эволюции включают усложнение организма, возрастание скорости метаболических процессов, повышение эффективности размножения и усиление заботы о потомстве, возрастание способности воспринимать сигналы внешней среды и реагировать на них (см. Huxley, 1932; Симпсон, 1948; Грант, 1980; Зотин, Криволуцкий, 1982; Озернюк, 1992, 2000а, б, 2003, 2006; Por, 2003).

Некоторые механизмы и ограничения эволюционных преобразований

В биологическом формообразовании неизбежны физические, геометрические, биомеханические и конструктивные ограничения морфогенеза (Arthur, 2002; Gould, 2002; Beloussov, 2012). Возможности возникновения морфологического разнообразия не бесконечны. В частности, морфопространство раковин вымерших и современных моллюсков, плеченогих и аммонитов в определенной мере ограничено, и не всякая теоретически конструируемая морфология реализуема (Raup, 1966).

Используя архитектурную аналогию, С. Гулд показал, что некоторые структурные решения определяют неизбежные морфологические следствия, возникающие как побочные проявления общей конструкции, которые изначально не имеют адаптивного значения и приобретают его лишь в ходе дальнейшей эволюции (Gould, Lewontin, 1979; Gould, 2002). Биологические структуры такого типа появляются как неизбежные и неадаптивные последствия общего дизайна организма, например, «корреляции роста» по Ч. Дарвину, еще не адаптированные для какой-либо функции, были названы экзаптациями (Gould, Vrba, 1982; Gould, 2002). «Экзаптивный пул» подобных структур создает основу для способности к дальнейшей успешной эволюции (Kirschner, Gerhart, 1998; Gould, 2002).

Подобным образом структуры, возникшие как адаптированные для выполнения какой-либо функции, могут быть экзаптированы (кооптированы) для иной роли (Gould, 2002; Arthur, 2002; Chipman, 2001). Как полагает Артур (Arthur, 2002), молекулярная версия концепции экзаптации представлена идеей об экзаптации не отдельных генов, а взаимодействующих генных «кассет» (Tabin et al., 1999). Концепция параморфизма А. Минелли (Minelli, 2000), рассматривающая конечности и хвост позвоночных как эволюционно измененные дупликаты основной оси тела, также представляет собой расширенное применение идеи экзаптации и кооптации (Arthur, 2002).

Были введены понятия внутренней канализации как направленности эволюционных изменений (Kirschner, Gerhart, 1998, 2005; Gould, 2002), а также «драйва развития», определяющего направление фенотипической эволюции (Arthur, 2001). Появилась концепция внутренней селекции мутаций, определяемой и направляемой интегрированной средой организма – генной, клеточной, организменной средой (Arthur, 2002). Таким образом, возникло представление о креативной роли эволюции, а не только лишь элиминирующем неблагоприятные мутации значении естественного отбора (Arthur, 2002). Гулдом (Gould 2002) была предложена и разработана иерархическая теория естественного отбора, действующего на уровнях генов, клеточных линий, организмов, демов (популяций), видов и клад (таксономических ветвей). Возрос интерес к эво-

люционной роли макромутаций регуляторных генов, эволюционным приобретениям и потерям различных ветвей животного мира.

Предполагается, что в раннем кембрии в геномные перестройки были вовлечены ключевые гены регуляторных каскадов контроля плана строения, и важную роль играла система *Hox*-генов, определяющих план строения и его эволюцию. Хотя возникновение *Hox*-генов предшествует радиации Bilateria, *Hox*-система как комплекс ее координированно действующих генных компонентов специфична для билатеральных животных, и «кембрийский взрыв» с внезапным появлением большинства типов, вероятно, предопределен «взрывом *Hox*-генов» (Por, 2009; Deutsch, 2010; Nielsen, 2012). Роль *Hox*-системы в детерминации переднезадней полярности и сегментации рассматривается как инновация Bilateria (Schierwater, Kamm, 2010), плезиоморфизм всех билатеральных животных, общий предок которых, вероятно, уже обладал полным набором *Hox*-генов.

Важную информацию о палеонтологических свидетельствах изменений онтогенеза, в особенности морфогенетических процессов, дает анализ организмов вендского периода, в частности, сегментированных вендских Bilateria. Сохранение главным образом лишь биоминерализованных частей организмов (раковин моллюсков, экзоскелета членистоногих, эндоскелета иглокожих и позвоночных), дает, тем не менее, сведения, позволяющие косвенно судить о гетерохрониях, педоморфозе, неотении и других эволюционных инновациях процесса индивидуального развития (McNamara, 1997; Gould 2002; Vrba, 2003; Hughes et al., 2008; Müller, 2008). Например, Гулд (Gould, 2002) рассматривает гетерохронию и педоморфоз у юрских двустворчатых моллюсков рода *Gryphaea* как прогрессивную ювенилизацию взрослого фенотипа, что проявилось в увеличении размера раковины и уменьшении степени ее закручивания в филетической последовательности от *G. arcuata* к *G. gigantean.* Филетический тренд уплощения раковины связан с экологическими условиями: прикреплением молодого организма к твердому субстрату и продлением периода быстрого роста, характерного для ювенильной стадии и ведущего к образованию менее закрученной раковины. Эти изменения захватывают рост и развитие ювенилизированного взрослого организма. Так, плоская прикрепленная раковина устрицы *Ostrea* характерна для твердых субстратов и чистой воды, тогда как закрученная раковина *Gryphaea* – для илистых субстратов. Таким образом, идентифицирован фенотипический тренд коррелированного изменения размера и формы раковины как пример становления неотении (Gould, 2002).

Изменения плана строения на ранних стадиях развития ведет иногда к исчезновению поздних стадий, вскрывая пласты регулируемых изменений; решающее значение может иметь скорость размножения и возникновение тенденции к сокращению жизненного цикла и ускорению

полового созревания (Красилов, 1986). Таким образом, гетерохронии, в частности, педоморфоз и неотения, могут использоваться при масштабных перестройках развития, приводящих к возникновению новых типов и ветвей животного мира.

Палеонтологические данные об эволюционных изменениях развития отдельных групп животных

Исследования ископаемых организмов позволяют определить возрастные изменения и представить их в виде последовательных стадий позднего онтогенетического развития. Этот подход широко применяется для изучения онтогенеза ископаемых позвоночных, иглокожих, моллюсков, брахиопод и многих других групп. Для кораллов, археоциат, аммонитов, гастропод и других вымерших животных можно реконструировать онтогенез, изучая отдельные стадии развития скелета взрослой особи как запись индивидуального развития. На кораллах последовательность развития скелетных структур, прежде всего септ (радиальных перегородок), выявляют на тонких срезах начальных участков отдельных кораллитов. Выявленная последовательность скелетогенеза, отражающая в определенной степени строение мягких тканей тела и развитие симметрии по мере роста кораллита, дает возможность сравнить развитие скелетных структур у представителей различных таксонов и описать особенности эволюции онтогенеза у разных ветвей кораллов. В частности, преобразованием симметрии в расположении и развитии септ в кораллите различаются палеозойские четырехлучевые кораллы (ругозы) и мезокайнозойские шестилучевые кораллы (Кузьмичева, 2002; см. Исаева и др., 2013). Более того, использование тонких срезов каменноугольного четырехлучевого коралла *Bothrophyllum conicum* позволило исследовать особенности развития почек из остатков соматических тканей погибавшего организма. Оказалось, что сохранившиеся крупные части материнского организма достраиваются путем регенерации до целого организма, сохраняя симметрию материнского организма. Было показано, что плоскость симметрии дочернего организма механически определялась рельефом участка скелета материнского организма, на котором происходило развитие дедифференцированного зачатка (Рожнов, 1974).

Уникальные данные о развитии раннекембрийских археоциат были получены на основе анализа срезов на разных уровнях скелета взрослого организма (Розанов, 1973). Аналогично исследуют развитие не только отдельных кораллитов или зооидов, но и колоний кораллов, мшанок и других колониальных организмов. У аммонитов изучают развитие лопастной линии, формы раковины и структуры ее поверхности, «разворачивая» раковину: ее постепенно разламывают по межкамерным перегородкам и анализируют морфологические изменения, достигая самых ран-

них стадий развития скелета, вплоть до эмбриональной камеры. Основоположником этого направления исследований был известный русский палеонтолог и геолог А.П. Карпинский (1890); наиболее впечатляющие успехи в этом направлении, признанные во всем мире, были достигнуты школой В.Е. Руженцева (Руженцев, 1949; Леонова, 2012). В частности, в этих работах были выявлены филогенетические преобразования строения аммонитов и других цефалопод, а также многие закономерности их эволюционного развития, связанные с онтогенетическими изменениями (Руженцев,1960; Барсков, 2012; Leonova, 2002).

Исследование эволюционных изменений онтогенеза связано также с изучением разнообразных аберрантных форм, представляющих собой эксперименты, поставленные самой природой (Seilacher, 1984; Шишкин, 1987; Gould 1998; Rozhnov, 2002). Этот подход позволяет реконструировать глубокие онтогенетические изменения у ископаемых форм (Шишкин, 1987; Rozhnov, 2002). Он наиболее успешно применяется при изучении ископаемых иглокожих и амфибий. Комбинация всех трех подходов применительно к исследованию индивидуального развития ископаемых форм дала возможность достаточно полно охарактеризовать онтогенез некоторых групп и сделать выводы о геологическом времени появления тех или иных онтогенетических особенностей (Rozhnov, 2002; см. Исаева и др., 2013).

Прямая связь между палеонтологией и эволюционной биологией развития может быть установлена исследованиями эмбрионов из отложений позднего докембрия и раннего кембрия, идентификация которых далеко не всегда бесспорна и нередко подвергалась сомнению (см. Nielsen, 2012; Donoghue et al., 2015). Найдены зародыши предполагаемых губок, книдарий, гребневиков и различных вторичноротых животных, включая представителей Panarthropoda (Chen et al., 2000; Dong et al., 2004; Donoghue et al., 2015). Сохранение клеточной структуры ранних зародышей обусловлено их фосфатизацией или силификацией (Chen et al., 2000; Conway-Morris, 2003; Dong et al., 2004; Yin et al., 2004). Фосфатизированные отложения дают возможность получать гистологические срезы толщиной 30-50 мкм для микроскопического исследования, позволяющего визуализировать клеточные и даже субклеточные структуры ископаемых эмбрионов (Chen et al., 2000). Проведены также экспериментальные исследования по искусственной минерализации (кальцификации и фосфатизации) яиц и зародышей современных ракообразных, допускающие сравнение со структурой природных ископаемых (см. Nielsen, 2012; Donoghue et al., 2015). Несомненно, фоссилизированные остатки эмбрионов необходимо интерпретировать с большой осторожностью (Donoghue et al., 2015).

Продуктивны исследования палеонтологов совместно с биологами развития. В частности, китайские палеонтологи вместе с известным американским эмбриологом Э. Дэвидсоном (Chen et al., 2000) провели ана-

лиз докембрийских и кембрийских отложений Китая (Doushantuo). Эти морские донные отложения фосфоритов включают зародышей вероятных книдарий и билатеральных животных стадии гаструлы. Гаструлы книдарий поразительно сходны с планулами современных коралловых полипов, хорошо различимы эктодермальная стенка гаструлы и энтодермальный архентерон; визуализированы энтомезодермальные выпячивания вершины архентерона зародышей вторичноротых. Гаструлы билатерий подобны таковым иглокожих или полухордовых. Обнаружены также гаструлы, состоящие из немногочисленных клеток, подобные эмбрионам полихет (Chen et al., 2000). Обнаруженные зародыши и их клетки по размерам сходны с развивающимися эмбрионами современных морских животных. Авторы пришли к выводу об аутентичности изученных докембрийских зародышей и эволюционной диверсификации билатерий уже к началу кембрия (Chen et al., 2000).

Фоссилизированные яйца и зародыши найдены также в кембрийских отложениях Сибири (река Алдан), Австралии и Северной Америки (Donoghue et al., 2006). В частности, найдены зародыши рода *Markuelia*, червеобразного животного, подобного приапулидам, ранее обнаруженные другими исследователями в кембрийских отложениях Канады, Швеции и Китая. Эти авторы (Donoghue et al., 2006) пришли к заключению, что фоссилизированные зародыши широко распространены, но недостаточно изучены. Среди ископаемых отложений найдено немало вторичных личинок представителей ракообразных и насекомых. Далее кратко рассмотрены преобразования онтогенеза членистоногих, иглокожих и хордовых (главным образом позвоночных).

Членистоногие

Достаточно крупные многоклеточные животные существовали уже в докембрии. Членистоногие появились к началу кембрия. Кембрийский взрыв в значительной мере представлял собой артроподизацию как появление и распространение разнообразных членистоногих (Gould, 1989; Waloszek, 2003; Smith, Ortega-Hernandez, 2014).

Кембрийские отложения в Канаде (Burgess Shale) и Китае (Chengjiang) включают ранних представителей основных ветвей членистоногих, но там найдены и животные, которых нельзя поместить ни в одну современную группу Arthropoda (Gould, 1989; Nielsen, 2012; Donoghue et al., 2015 рис. 11). Такие организмы относят к расширенному таксону Panarthropoda. Этот таксон включает, помимо предковых форм, ныне живущих собственно членистоногих (Euarthropoda), а также Onychophora, Tardigrada и вымершие группы, прежде всего Lobopoda, представители которых трактуются как возможные предки панартропод (см. Nielsen, 2012). Euarthropoda включают четыре группы известных с кембрия организмов: Myriapoda, Chelicerata, Insecta и Crustacea (Budd, Telford, 2009).

Известный представитель кембрийской фауны, *Hallucigenia sparsa* (рис. 11 а, б) из Burgess Shale была отнесена к семейству Hallucigeniidae (Conway Morris, 1998a, b). Недавние находки хорошо сохранившихся экземпляров *Hallucigenia* из раннекембрийской фауны Китая (Chengjiang) позволили определить ее как родственное онихофорам животное и отнести к группе Lobopoda (Smith, Ortega-Hernandez, 2014).

Минерализованные остатки вымерших членистоногих дают информацию о ранней эволюции артропод, но палеонтологические сведения об их развитии ограничены из-за отсутствия ранних стадий онтогенеза (Hughes et al., 2008). Информация о развитии трилобитов сводится к результатам исследований биоминерализованного экзоскелета, разделенного на две основные области – цефалон и туловище. Число сегментов цефалона (их, по крайней мере, четыре) оставалось постоянным в ходе онтогенеза и почти постоянным у всех трилобитов; не известно, дифференцировались ли эти сегменты одновременно или последовательно. Число же туловищных сегментов варьировало и в ходе онтогенеза, и у разных представителей трилобитов. Развитие туловищной сегментации у трилобитов сопоставимо с таковым у многих других эуартропод: это анаморфное (последовательное) увеличение числа сегментов на личиночных стадиях (Hughes et al., 2008). Число туловищных сегментов варьирует у трилобитов раннего кембрия от 10 до 100 и более; возможно, у некоторых трилобитов число сегментов увеличивалось в течение всей жизни. Последовательные личиночные стадии трилобитов различаются обычно одним или двумя сегментами. Такой паттерн регулярной и постоянной генерации сегментов способствует реконструкции онтогенеза трилобитов.

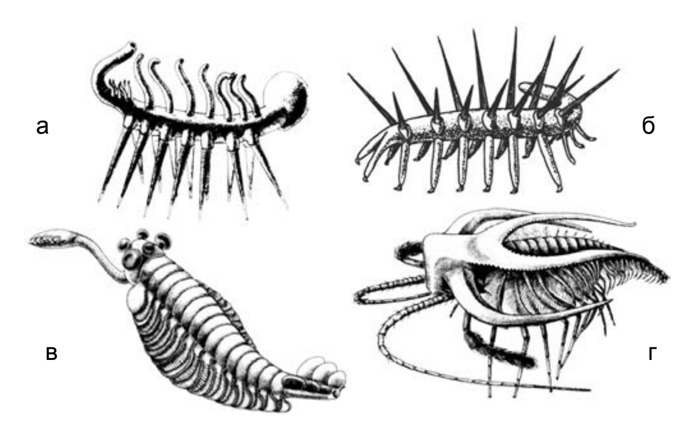


Рис. 11. Реконструкции кембрийских донных организмов: а, б – *Hallucigenia* (а – первоначальная реконструкции; б – более поздняя, с правильной ориентацией дорсовентральной оси); в– *Opabinia*; г – *Marrella* (а, в, г – по: Gould, 1989, б – по: http:/ /www.mnh.si.edu/Burdgess Shale).

Более резкие изменения, происходившие между некоторыми личиночными стадиями, были названы «метаморфозом», но даже метаморфоз у трилобитов представляет собой не столь радикальную реорганизацию тела, как у современных членистоногих. На более поздних стадиях онтогенеза туловище трилобита разделялось на торакс (передний набор сегментов) и пигидий (задний набор), продолжалось анаморное нарастание туловищных сегментов (Hughes et al., 2008). Степень аллометрических изменений, происходивших при переходе от одной личиночной стадии к следующей, умеренна, особенно на более поздних стадиях онтогенеза (Hughes et al., 2008).

Постепенное, анаморфное развитие было, по-видимому, широко распространено среди ранних членистоногих, что предположительно связано со сходством экологических условий на разных стадиях развития. Фосфатизированные микроскопические окаменелости из кембрийских отложений Швеции (Orsten) дали свидетельства ранней филогении артропод и прогрессивной модификации головных конечностей с функциями питания и движения (Bergström, Hou, 2003; Waloszek, 2003). Параллельные тренды эволюции кембрийских артропод проявились, в частности, в формировании головы путем добавления к ней пост-антеннальных сегментов у многих групп. Есть основания полагать, что голова предка включала только антеннальный сегмент вдобавок к акрону: у многих кембрийских артропод антенна – единственный специализированный придаток (Bergström, Hou, 2003). Развитие артропод кембрия представлено постэмбриональными стадиями.

Ракообразные, как и все членистоногие, утратили первичную планктонную личинку с возникновением вторичных расселительных личинок. Идентифицированы ископаемые личинки Crustacea (представителей Maxillopoda и Branchiopoda). Личинка появляется из яйца на стадии науплиуса. Науплиус – личинка вымерших и современных ракообразных с тремя парами «головных» конечностей: антеннулами, антеннами и мандибулами. Наличие такой «головной личинки» – плезиоморфный признак линии Eucrustacea, давшей начало современным ракообразным (Walossek, 1993; Waloszek, 2003). Эволюционно более ранняя личинка имела, помимо антеннул, еще три пары конечностей, совмещающих функции локомоции и питания. Науплиус вымершего ракообразного, бранхиоподы *Rehbachiella kinnekullensis* имел три пары конечностей (антеннулы, антенны и мандибулы). У этого вида идентифицированы четыре науплиальные и 26 пост-науплиальных стадий. Туловищные сегменты добавлялись по одному на каждые две линьки. Анаморфное развитие *R. kinnekullensis* рассматривается как исходное при сравнении с развитием других ракообразных, у которых после одной линьки появляется большее число сегментов (Walossek, 1993).

Сведения о геологической истории и эволюции насекомых – самой молодой из крупных ветвей членистоногих – составляют содержание

палеоэнтомологии (Жерихин и др., 2008). Личиночные стадии развития насекомых встречаются в ископаемом состоянии и бывают весьма многочисленными (Пономаренко, 2008, 2011), что делает эту группу беспозвоночных удобной для поиска палеонтологических свидетельств изменений онтогенеза. У насекомых выделяют несколько типов онтогенезов (прото-, архи-, геми-, голометаболия), особенности которых закладываются на ранних стадиях развития. Для взрослых насекомых и их личинок характерны совершенно разные экологические условия. Разнообразие личинок из одного и того же материала выше, чем разнообразие взрослых стадий; эволюционные скорости изменений морфогенеза личинок и имаго часто не совпадают. Таким образом, эволюционные преобразования онтогенеза насекомых в значительной мере связаны с экологическими условиями, в которых протекало развитие (Пономаренко, 2008, 2011).

У членистоногих прослеживается эволюция сегментов от гомономии к региональной специализации с усложнением плана строения. В частности, анцестральное состояние крылатых насекомых, характеризующееся наличием крыльев (или плоских крылоподобных выростов) на всех грудных и абдоминальных сегментах, было отмечено у ископаемых личинок вымерших крылатых насекомых Paleodictyoptera (Gould, 2002; Kirschner, Gerhart, 2005). Оно сохранилось у личинок современных поденок. Возможно, крылья современных насекомых возникли из жаберных лопастей с дыхательной функцией, найденных на всех туловищных сегментах водных личинок вымерших Paleodictyoptera и современных личинок поденок (Shubin et al., 1997; Shubin, 1998). Данные о подавлении селекторными *Hox*-генами развития зачатков крыльев на всех сегментах тела, кроме двух грудных у большинства крылатых насекомых и одного сегмента у Diptera, также привели к предположению, что у предка с гомономной сегментацией крылья присутствовали на всех посторальных сегментах тела (Carroll, 1995; Gould, 2002).

Сегментированная зародышевая полоска – филотипическая, высоко консервативная стадия развития членистоногих (Raff, 1996). Механизм сегментации у *Drosophila melanogaster* не дает информации об анцестральном паттерне сегментации членистоногих, поскольку все сегменты высших Diptera формируются почти одновременно (Chipman, 2008).

Иглокожие

В индивидуальном развитии современных иглокожих билатерально-асимметричные личинки перестраиваются в радиально-симметричных взрослых животных подобно тому, как это происходило в историческом развитии пятилучевых иглокожих (Рожнов, 2009, 2013, 2014; David, Mooi, 2014). Эволюционный переход от билатеральной к пентарадиальной симметрии сопряжен с радикальной перестройкой *Hox*-кластера иглокожих,

организация которого существенно отличается от таковой других вторичноротых.

Предполагаемая историческая динамика морфологических преобразований в онтогенезе иглокожих прослежена на основе анализа палеонтологического материала (Рожнов, 2009, 2013, 2014). При перестройке личинки во взрослый организм положение ротового отверстия и личиночного комплекса органов обычно существенно изменяется. Процесс перемещения будущего рта (вестибулума) с переднебрюшного конца личинки морских лилий на почти противоположный задний конец организма был назван элевацией (Иванова-Казас, 1978). Процесс элевации с переформатированием переднезадней оси тела выглядит как выпрямление сложенного под углом зачатка морской лилии, у которого оси стебля и чашечки распрямляются с формированием единой оси (Рожнов, 2009, 2013). У некоторых представителей морских лилий в результате задержки элевации формируется изогнутое взрослое животное, у которого ось кроны расположена под прямым углом к оси стебля.

Изменения скорости процесса элевации обнаружены не только у современных, но и у ископаемых морских лилий, начиная с ордовика, когда морские лилии впервые появились в геологической летописи (Rozhnov, 2002). Изгибы тела морских лилий могут формироваться не только в результате педоморфной задержки элевации, но и при избыточной выраженности этого процесса, что ведет к изгибанию тела в той же плоскости, но в противоположном направлении (Рожнов, 2013).

Процесс элевации скелета является одним из базисных не только в индивидуальном развитии, но и в их историческом развитии, так как отражает переход их предков от свободно-подвижного образа жизни к прикрепленному (Рожнов, 2009, 2013, 2014). Прикрепленная стадия с направленным вверх ртом существовала, по-видимому, в историческом развитии современных свободноживущих иглокожих: морских ежей, морских звезд, офиур и голотурий. Палеонтологические данные свидетельствуют о сидячем образе жизни предков элевтерозойных иглокожих (Rozhnov, 2002).

Существование в историческом развитии современных подвижных иглокожих прикрепленных к грунту предков с направленным вверх ртом ведет к предположению о включении элевации в анцестральный онтогенез. У современных элевтерозойных иглокожих элевация весьма изменилась или даже исчезла из онтогенеза (Рожнов, 2013). Ротовое отверстие взрослых морских звезд обращено к субстрату, элевация у них дополняется флексией – изгибанием личиночной ножки на преоральной лопасти личинки. В результате этого ротовое отверстие формирующейся морской звезды вновь становится обращенным к субстрату (Иванова-Казас, 1978).

У морских лилий элевация происходит на довольно поздних стадиях онтогенеза. У морских ежей взрослый организм развивается из руди-

мента, формирующегося на левой стороне личинки; начальная и конечная стадии элевации сближены и включены в базисный план строения зачатка (Рожнов, 2013, 2014). Процесс элевации в индивидуальном развитии морских звезд и морских лилий сочетается с процессом ротации некоторых систем органов относительно друг друга, что отражает становление радиальной симметрии в раннем филогенезе иглокожих на основе первичной билатеральной асимметрии их предков (Рожнов, 2009, 2013).

Хордовые

В соответствии с различными эволюционными моделями предполагается, что предок хордовых был сходен с ланцетником, личинкой асцидий или аппендикулярией (Рупперт и др., 2008). Наиболее раннее животное, идентифицированное как хордовое, *Pikaia* (рис. 12), небольшое беспозвоночное с признаками мышечной сегментации и присутствия нотохорда, было найдено в кембрийских отложениях Канады (Burgess Shale). Нельзя утверждать, что *Pikaia* – предок позвоночных, но это звено, связывающее берджесские кембрийские отложения с эволюцией человека (Gould, 1989). Позже остатки хордовых были найдены в кембрийских и докембрийских отложениях Китая (Chengjiang) (Por, 2003). Нильсен (Nielsen, 2012) полагает, что такие окаменелости, с наибольшей вероятностью интерпретируемые как остатки ранних вторичноротых/хордовых, мало дают для реконструкции эволюции хордовых.

Гетерохронные и гетеротопные изменения в экспрессии факторов транскрипции и ключевых сигнальных молекул, вероятно, лежали в основе эволюции краниальной и лицевой морфологии и видовых различий скелетных элементов (Minoux, Rijli, 2010). Модификации времени экспрессии сигнальных молекул ведут к изменению размера и формы краниальных скелетных структур и поэтому могут быть причиной эволюционных гетерохронных изменений (Abzhanov, Tabin, 2004; Minoux, Rijli, 2010). Гетеротопия эпителио-мезенхимных взаимодействий, вероятно, обусловила такую эволюционную инновацию, как возникновение

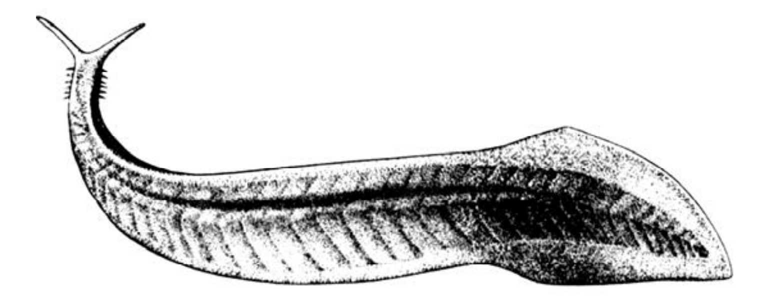


Рис. 12. Реконструкция *Pikaia*, кембрийского хордового животного (по: Gould, 1989).

челюстноротых позвоночных от бесчелюстных предков. Этот эволюционный переход, по-видимому, был связан также с изменениями времени, места и уровня экспрессии содержащих гомеодомен факторов транскрипции, о чем свидетельствуют молекулярные и морфологические различия современных бесчелюстных и челюстноротых (Minoux, Rijli, 2010).

Одним из крупнейших онтогенетических преобразований в эволюции позвоночных была трансформация плавников рыб в конечности четвероногих животных в течение девонского периода (Shubin, Alberch, 1986; Hinchliff, 1989; Ahlberg, 2003; Bergström, 2003; Benton, Harper, 2009; Воробьева, 2010а, б). Преобразование плавников рыб в тетраподные конечности на протяжении длительного периода детально исследовались Э.И. Воробьевой, отметившей, что сравнительный анализ палеонтологических и современных эмбриологических данных позволяет судить о границах гомологизации элементов эндоскелета конечностей тетрапод и парных плавников древних групп рыб (Воробьева, 2010а, б). В этом случае гомологизация возможна только в филетически близких группах и только в отношении проксимальных элементов этих структур, которые стабилизируются в ходе эволюции быстрее по сравнению с дистальными элементами. Вариабельность дистальных структур плавника рипидистий объясняется гетерохрониями развития и взаимодействием таких факторов морфогенеза, как конденсация мезенхимы, развитие апикального гребня и зоны поляризующей активности (Воробьева, 2010а, б).

Перемещение позвоночных из воды на сушу происходило в течение 15–20 миллионов лет, от среднего девона до раннего карбона (Ahlberg, 2008). На первом этапе у рыб *Panderichthys* изменилась форма тела и головы в связи с обитанием в очень мелких водах. Самые ранние тетраподы *Acanthostega* и *Ichthyostega* уже приобрели конечности, одновременно сохранив хвостовой плавник и каналы латеральной линии; у тетрапод *de novo* возникли пальцы и запястье (Ahlberg, 2008; Воробьева, 2010а, б).

В эволюции тетрапод происходили многочисленные модификации строения конечности. У *Acanthostega* и *Ichthyostega* конечности имели семь или восемь пальцев (Ahlberg, 2003; рис. 13).

В мезозое очень успешной группой тетрапод были динозавры (Benton, Harper, 2009), вновь освоившие водную среду (плезиозавры и ихтиозавры) и сумевшие взлететь (птерозавры и позже – птицы). У ихтиозавров и плезиозавров (в дальнейшем и у китов) увеличилось число костей пальцев передних конечностей, т.е. возникла полифалангия; у ихтиозавров увеличилось также число пальцев (полидактилия), тогда как у китов число пальцев передней конечности уменьшилось (Wimsatt, 2007). Палеонтологи находят тетрапод позднего девона с шестью, семью или восемью пальцами, а также множественными фалангами пальцев (Wimsatt, 2007; Ahlberg, 2008; Benton, Harper, 2009; рис. 8); палеонтологические данные позволяют судить о древних механизмах развития, даже утраченных у

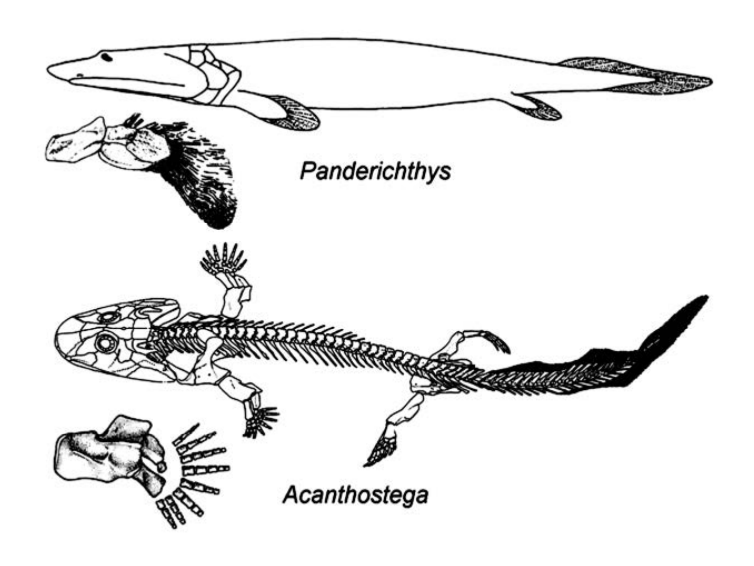


Рис. 13. Возникновение конечностей Tetrapoda из плавников рыб (по Ahlberg, 2008).

представителей современных таксонов (Müller et al., 2010). Позже, у постдевонских тетрапод, число пальцев редуцировалось до пяти или четырех, размеры пальцев продолжали варьировать (Ahlberg, 2003).

Эволюционные инновации на ранних стадиях развития, задолго до филотипической стадии, критичны для приспособленности (Kirschner, Gerhart, 2005). Важным событием в эволюции позвоночных стали инновации строения яйца у ранних рептилий (около 300 млн лет назад). До этого времени наземные животные должны были возвращаться в воду для откладки яиц, что ограничивало их экспансию на суше. Множественные изменения строения яиц с появлением запаса питательных веществ, воды, а также средств их использования и газообмена (амнион, хориоаллантоис) обеспечили освоение суши. Палеонтологические данные включают прямые свидетельства об эмбриональном развитии динозавров (Carpenter et al., 1996).

Гетерохронии как изменение «расписания» или скорости событий развития играли важную роль в эволюции основных линий позвоночных, включая происхождение птиц и эволюцию млекопитающих (Bhullar et al., 2012). Птицы эволюционировали от динозавров (Bergström, 2003; Benton, Harper, 2009). Применение математического моделирования с использованием морфометрических данных палеонтологии и эволюционной биологии развития свидетельствует о том, что происхождение птиц связано с эволюционными преобразованиями, в основе которых лежал гетерохронный процесс педоморфоза, проявляющийся в сходстве с ювенильными предковыми формами. Анализ ряда признаков тероподных

динозавров, птиц и других представителей позвоночных выявил сходство черепов птиц и детенышей динозавров. Это означает, что происхождение птиц связано с преобразованиями черепа, в основе которых лежал педоморфоз в комбинации с локальным пераморфозом при морфогенезе клюва (Bhullar et al., 2012).

В Китае найдены представители нескольких семейств динозавров, например *Sinornithosaurus* и *Beipiaosaurus*, с перьями или пуховидными структурами, предположительно выполнявшими защитные функции. Настоящие перья обнаружены на конечностях и хвостах динозавров *Caudipteryx* и *Protarchaeopteryx*, не адаптированных к полету и не относящихся к птицам (Currie, 2003). Перьевидные и пуховидные структуры могли использоваться для укрывания яиц в гнездах (Bhullar et al., 2012). Предполагается также, что предками птиц могли быть динозавры, которые приобрели теплокровность, а перья служили для стабилизации температуры тела (Currie, 2003).

Самый древний представитель летающих птиц *Archaeopteryx*, найденный в верхних юрских отложениях Германии в 1861 году, стал знаменитым недостающим звеном эволюции (см. Benton, Harper, 2009). Археоптерикс, подобно современным птицам, имел клюв, перья и крылья, строение которых свидетельствует о способности к активному полету, но сохранял такие черты рептилий, как хвост с костными позвонками, три пальца с когтями на передних конечностях и зубы. До 2005 года были найдены еще 9 скелетов *Archaeopteryx*. Присутствие когтей на конечностях вызывает предположение о способности археоптерикса влезать на деревья (Benton, Harper, 2009).

Исследование, проведенное на представителях нескольких вымерших и современных таксонов амниот показало, что у ископаемых и современных рептилий (особенно змей), а также птиц, число позвонков весьма вариабельно в отличие от млекопитающих (Müller et al., 2010). Найдены три вида ископаемых змей с задними конечностями, и палеонтологические данные свидетельствуют о постепенной утрате скелета этих конечностей, прежде всего дистальных элементов. У всех трех видов змей конечности лишены пальцев, но сохранили три основные кости конечности, tibia, fibula и femur (Hall, 2002). Молекулярно-генетические исследования экспрессии специфических *Hox*-генов в эмбриогенезе современных змей свидетельствуют об отсутствии сигнала для развития почки передних конечностей. У некоторых змей возникают почки задних конечностей, быстро регрессирующие в ходе раннего развития; у питона формируются рудиментарные скелетные элементы задних конечностей. Таким образом, интеграция молекулярных, эмбриологических и палеонтологических данных позволила достичь более глубокого понимания эволюционных преобразований, которые привели к утрате конечностей змей (Hall, 2002).

Ископаемые находки документируют редукцию задних конечностей современных китов и дельфинов, связанную с локомоторной функцией (Thewissen et al., 2006). Ранние представители китообразных имели задние конечности, используемые для плавания, тогда как позже плавание осуществлялось с помощью хвоста. Для исследования редукции задних конечностей современных китообразных были привлечены также данные биологии развития (Thewissen et al., 2006). Известно, что рост почек конечностей амниот поддерживается двумя сигнальными центрами: апикальным эктодермальным гребнем и зоной поляризующей активности, которая характеризуется экспрессией гена *Sonic hedgehog* (*Shh*). Показано, что в раннем развитии дельфинов *Stenella attenuata* возникают почки задних конечностей с эктодермальным гребнем, но они дегенерируют на пятой неделе развития, и экспрессия *Shh* в почке задней конечности отсутствует (Thewissen et al., 2006). В ходе нормального развития мускулатура задних конечностей развивается из миобластов, мигрирующих из прилегающих сомитов в ответ на сигналы от апикального эктодермального гребня и зоны поляризующей активности. Исследование способности почек конечностей зародышей *S. attenuata* индуцировать миграцию миобластов из сомитов (с использованием миозина в качестве маркера миогенных клеток) показало присутствие миозин-позитивных клеток в почках передних, но не задних конечностей (Thewissen et al., 2006). Интерпретация этих данных в контексте ископаемых находок и сведений о функции *Shh* привела авторов к предположению о редукции экспрессии *Shh* в ходе эволюции китообразных. Модуляция генного контроля развития вызвала элиминацию большей части скелета задних конечностей после потери их локомоторной функции; редукция задних конечностей в эволюции китообразных способствовала более эффективному плаванию. Эти результаты, как и данные, полученные на змеях, указывают на сопряженность контроля осевого паттерна и паттерна конечностей *Hox*-генами (Thewissen et al., 2006).

Хорошо документировано и стало классическим примером эволюционного изменения строения конечности млекопитающих алломорфное увеличение среднего пальца лошадей (Kirschner, Gerhart, 2005).

Первые млекопитающие были мелкими насекомоядными животными позднего триаса, которые достигли обилия и разнообразия только после вымирания динозавров (Benton, Harper, 2009). В различных эволюционных линиях мезозойских млекопитающих неоднократно появлялись и исчезали ребра на поясничных позвонках.

Важной эволюционной инновацией млекопитающих стало открепление трех крошечных слуховых косточек от мандибулярной кости. Понимание происхождения этих косточек среднего уха – один из примеров конструктивного применения эмбриологического, эволюционного и палеонтологического подходов (Hall, 2002). Слуховые косточки возникли

у рептилий, предков млекопитающих (Kemp, 1982; Hall, 2002). Описан представитель мезозойских конодонтов, у которого слуховые косточки еще соединены с мандибулой окостеневшим меккелевым хрящом, что ясно иллюстрирует переход от единой структуры уха и челюсти к их разъединению (Luo et al., 2007). В ходе эмбрионального развития современных сумчатых характерное для рептилий состояние замещается типичным для млекопитающих (Kemp, 1982; Hall, 2002).

У млекопитающих произошло педоморфное увеличение глаз и связанных с ним областей мозга параллельно с увеличением полости носа и обонятельной области мозга (Bhullar et al., 2012). Концепции неотении и аллометрии применимы и к палеоантропологии (Hall, 2002). Вероятно, неотения сыграла важную роль в эволюции человека и совершенствовании его мозга. Известно, что увеличение размеров кортекса мозга приматов, и особенно человека, лежало в основе возрастания интеллектуальных способностей.

Такие образом, палеонтологические данные свидетельствуют о возможности эволюционной диссоциации временных, пространственных и функциональных взаимодействий и ограничений процессов развития. Способность эволюционировать может анализироваться с использованием концепции модулярности в терминах пластичности развития систем органов и их ответа на изменения среды. Эволюционное разнообразие морфогенеза далеко не бесконечно. Например, формообразование конечности позвоночных связано с определенными ограничениями. В экспериментах с подавлением клеточных делений найдена зависимость числа пальцев у хвостатых амфибий от числа формирующих их клеток (см. Gilbert, 2006); выявлены некоторые правила, ограничивающие возможности морфогенеза конечности в эксперименте и эволюции (Oster et al., 1988).

В эволюции вторичноротых животных, особенно хордовых и позвоночных, увеличение ресурсов резервных стволовых клеток обеспечило увеличение размера организма, пластичность и разнообразие морфогенезов, создание нового морфопространства (Jenner, 2008) и возможность селекции на клеточном уровне в пределах организма (Edelman, 1993; Kirschner, Gerhart, 2005). Возникновение специализированной популяции мигрирующих стволовых клеток нервного гребня у предков хордовых рассматривается как фундаментальное событие и ключевая инновация в эволюции позвоночных (Trainor et al., 2003; Le Douarin et al., 2004).

Наличие скелетогенных производных нервного гребня позволяет понять возникновение вторичного хряща, дающего костные компоненты черепа, в ходе индивидуального развития и эволюции. Вторичный хрящ появляется в развитии птиц и млекопитающих, но отсутствует у современных рептилий; исследования черепов зародышей вымерших предковых форм могут дать информацию о присутствии или отсутствии этого

хряща и установить либо отвергнуть его гомологию у птиц и млекопитающих (Hall, 2002). У некоторых примитивных представителей бесчелюстных дермальный экзоскелет всего тела, возникающий из клеток нервного гребня, включает в себя и кость, и дентин (Smith, Hall, 1990). Это дает возможность интерпретировать происхождение подобного экзоскелета вымерших форм и установить время расхождения одонтогенных и скелетогенных производных нервного гребня краниального и туловищного частей тела в прошлом.

В формообразовательных процессах на разных этапах эволюции тех или иных структур или органов важную роль играют стволовые клетки. В частности, стволовые клетки нервного гребня обеспечивают ежегодное формирование оленьих рогов. Рекордсмен по размеру и массе рогов (до 35 кг) – вымерший гигантский ирландский олень *Megaloceros giganteus* (Gould, 2002; Benton, Harper, 2009). Экспериментально показано, что вариации морфологии клюва птиц, также развивающегося за счет стволовых клеток нервного гребня, определяются как видовой молекулярной программой развития клеток нервного гребня, так и их локальным окружением (Abzhanov et al., 2004a, b, 2006; Minoux, Rijli, 2010). Доказана зависимость размера и формы клюва у птиц, включая описанных Дарвином вьюрков, от уровня экспрессии гена *Bmp4*, кодирующего сигнальный белок BMP4 (Abzhanov et al., 2004a) У вьюрков длина и форма клюва контролируются также кальмодулином, участвующим в сигнализации, опосредованной ионами кальция (Abzhanov et al., 2006).

Таким образом, интерпретация палеонтологических сведений возможна на основе современных данных генетики и биологии развития, прежде всего сведений о морфогенетических функциях *Hox*-генов, а также о роли резервных стволовых клеток в формообразовании. Такие гетерохронии, как педоморфоз и неотения, многократно выявлены в эволюционных исследованиях. Палеонтологические данные свидетельствуют о возможности эволюционной диссоциации пространственных и временных взаимодействий, а также о неизбежности ограничений процессов развития. Интеграция палеонтологических сведений с данными клеточной и молекулярной биологии развития допускает реконструкцию генных регуляторных сетей и клеточных событий эмбриогенеза предковых форм.

Глава 3. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННО́Й ОРГАНИЗАЦИИ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ И ЭВОЛЮЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ

Сравнительная геномика

Данные сравнительной геномики как анализа геномов организмов различных уровней организации дают новое освещение эволюционного ландшафта и новое понимание эволюционных траекторий разных ветвей Metazoa (Putnam et al., 2007; Erwin, 2009; Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015; Srivastava, 2015; Technau et al., 2015; Giribet, 2016; Halanych, 2016; Wanninger, 2016). Секвенирование геномов различных животных, от простейших до млекопитающих, стало источником важнейшей информации как для сравнительной геномики и филогеномики (Giribet, 2016), так и для понимания эволюции генетического «инструментария» развития (Carroll et al., 2005). Заключения современной филогеномики далеко не всегда совпадают с представлениями традиционной сравнительной морфологии животных (см. Nielsen, 2012; Иванова-Казас, 2015а; Halanych, 2016).

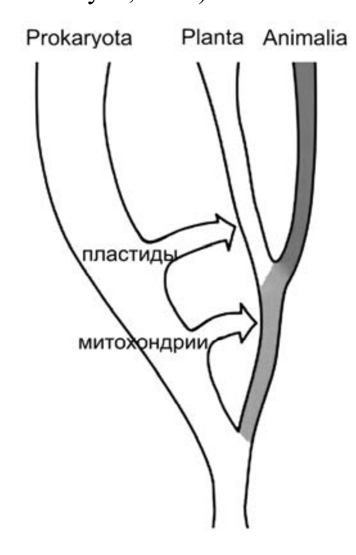


Рис. 14. Прокариотическое происхождение митохондрий и пластид клеток Eukaryota (по Meyerowitz, 2002, с изменениями).

Как известно, выделены три крупнейших домена мира живого: Archaea, Bacteria, объединяемые как Prokaryota, и Eukarya (Eukaryota), к которым относятся растения, животные и грибы (Muller et al., 2010; Wassenaar, 2012). Сравнение ДНК бактерий, растений и животных показывает, что все эти организмы произошли от общего предка, жившего более трех миллиардов лет назад. Eukaryota так или иначе эволюционировали от Prokaryota; эукариотические клетки приобрели митохондрии, несущие отчетливые следы прокариотического происхождения; фотосинтезирующие клетки Eukaryota унаследовали от Prokaryota пластиды (Margulis, 1981; Meyerowitz, 2002; Wassenaar, 2012; Strassmann, Queller, 2012; Шубин, 2013) (рис. 14). Таким образом, эукариотические клетки включают органеллы, сохранившие часть прокариотического генома. В част-

ности, в геноме человека присутствуют гены архей и бактерий (см. Carroll, 2006, 2008; Wassenaar, 2012; Шубин, 2013; Minelli, 2015a). При сравнении геномов Prokaryota и Eukaryota найдено около 500 генов, присутствующих во всех этих организмах (см. Carroll, 2006, 2008).

Помимо древних заимствований эукариотическими организмами генома и клеточных структур прокариот, в ходе эволюции происходил и ныне продолжается горизонтальный перенос генов от организмов других видов и таксонов. При исследовании геномов 26 видов животных, в том числе родов *Caenorhabditis, Drosophila* и 14 видов позвоночных, включая 10 видов приматов, обнаружены инородные гены, не принадлежащие Metazoa, число которых составляет от десятков до сотен в геноме изученных видов (Crisp et al., 2015). Такие инородные гены способны к экспрессии и участию в метаболизме организмов-реципиентов, а также дупликации и диверсификации в их геноме; гены бактериального происхождения в геноме эукариотических организмов приобретают интроны. В частности, у человека найдены 33 (по крайней мере) инородных гена, участвующих в метаболизме аминокислот, липидов, модификации макромолекул, антиоксидантной активности и иммунном ответе (Crisp et al., 2015).

В эволюции и прокариотических, и эукариотических клеток неоднократно возникала многоклеточность; бактерии и археи образуют сообщества, характеризующиеся координированным адаптивным поведением; эти сообщества нередко ассоциированы с многоклеточными эукариотическими организмами (Rainey, Kerr, 2012; Strassmann, Queller, 2012; Olsen et al., 2012; Isaeva, 2014b). Известно, по крайней мере, семь крупных ветвей организмов (включая животных, растения, грибы, бурые и красные водоросли), которые в ходе эволюции независимо приобрели многоклеточность и достаточно сложную организацию; идентифицировано также большее число (26) независимых эволюционных переходов к различным типам многоклеточности (см. Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015).

Показано, что около 80% генов общего предка Eumetazoa имеют родственные гены за пределами царства животных, т.е. унаследованы от одноклеточных предков (Putnam et al., 2007; Свердлов, 2009; Technau, 2010; Sebé-Pedrós et al., 2011). Для понимания перехода животных к многоклеточной организации существенно исследование геномов ближайших одноклеточных родственников Metazoa – хоанофлагеллят, которые характеризуются одним жгутиком, окруженным воротничком актиновых филаментов, и морфологически сходны с хоаноцитами губок. Многоклеточные животные и Choanoflagellata рассматриваются как сестринские таксоны, формирующие вместе с двумя другим линиями одноклеточных организмов (Filasterea и Ichthyosporea) монофилетическую группу Holozoa (Ruiz-Trillo et al. 2008; Erwin, 2009; Nielsen, 2012; Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015; Srivastava, 2015).

Оказалось, что гены, игравшие ключевую роль в эволюции многоклеточных животных, имеют более раннее эволюционное происхождение, чем предполагалось ранее. Данные секвенирования геномов таких одноклеточных организмов, как хоанофлагеллята *Monosiga brevicollis* и филастерия *Capsaspora owczarzaki*, представляют большой интерес для понимания происхождения генов животных (см. Erwin, 2009; Suga et al. 2013; Srivastava, 2015). В геноме *M. brevicollis* идентифицированы гены, ортологичные генам различных представителей Metazoa; эти гены кодируют некоторые транскрипционные факторы, белки внеклеточного матрикса, клеточной адгезии и некоторых сигнальных путей Metazoa (см. Erwin, 2009; Srivastava, 2015). В геноме амебоидного организма *Capsaspora* найдены ортологи генов, кодирующих интегрин, транскрипционные факторы, в том числе содержащие гомеодомен, а также белки сигнальных систем (Sebé-Pedrós et al., 2010, 2011). Некоторые гены, родственные функционирующим как нейральные у Metazoa, найдены в геномах *Capsaspora* и *Monosiga*, т.е. возникли в геномах одноклеточных предков (см. Srivastava, 2015). У *Capsaspora* обнаружен ортолог гена *Brachyury* (играющего важную роль в гаструляции многоклеточных животных), гетерологичная экспрессия которого оказалась способной обеспечить успешное прохождение процесса гаструляции у лягушки *Xenopus laevis* (см. Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015). Подобные гены, выполняющие важные функции в развитии и построении тела многоклеточных животных, претерпели эволюционную экспансию у Metazoa при переходе от одноклеточной к многоклеточной организации животных с временнóй и пространственной дифференциацией клеток (Larroux et al. 2008; Srivastava et al. 2010; Srivastava, 2015; Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015).

Как известно, большинство типов многоклеточных животных относятся к группе Bilateria, разделяемой на три основных ветви – Deuterostomia, Lophotrochozoa и Ecdysozoa (Aguinaldo et al., 1997; Peterson, Eernisse, 2001, 2016; Halanych, 2004, 2016; Giribet, 2016). Таксоны животных, не относящиеся к Bilateria (Cnidaria, Ctenophora, Placozoa и Porifera), возникли в процессе эволюции как более ранние ветви по отношению к билатериям и обычно считаются более просто организованными. Губки традиционно рассматриваются как наиболее рано отделившийся тип животных; книдарии, гребневики и Bilateria часто именуются Eumetazoa (см. Nielsen, 2012; Srivastava, 2015).

К настоящему времени проведено секвенирование геномов десятков видов многоклеточных животных разных уровней организации (Song, Wang, 2013). Исследования геномов *Trichoplax adhaerens* (Placozoa), губки *Amphimedon* (Porifera), книдарий *Nematostella vectensis* и *Acropora* показали, что контролирующий развитие геномный «инструментарий» (Carroll et al., 2005; Levinton, 2008; Erwin, 2009), характерный для билатеральных животных, возник в ранней эволюции Metazoa (Erwin, 2009;

Putnam et al., 2007; Technau, 2010; Srivastava, 2015; Technau et al., 2015; Giribet, 2016). Выявлен удивительный консерватизм генной структуры и геномной организации животных как свидетельство древнего эволюционного происхождения генных контуров, лежащих в основе важнейших биологических процессов, включая эмбриогенез, контроль клеточного цикла, роста, межклеточных коммуникаций, апоптоза и клеточной дифференцировки (Srivastava, 2015). Геном трихоплакса включает гены, кодирующие транскрипционные факторы и компоненты сигнальных путей (см. Putnam et al., 2007; Levinton, 2008; Wagner, 2015). Очень большое число генов, детерминирующих морфологический план строения тела животных, оказалось общим для всех Metazoa. Геном Placozoa и губок, лишенных специализированных мышечных клеток и нейронов, поразительным образом частично кодирует молекулярные процессы, требуемые для жизнедеятельности этих типов клеток (см. Nielsen, 2012; Srivastava, 2015).

Книдарии – предполагаемая сестринская группа билатеральных животных, важнейшая для понимания эволюции Bilateria (см. Levinton, 2008; Technau et al., 2015). Как известно, книдарии двуслойны, лишены мезодермы и традиционно рассматриваются как радиально симметричные организмы. Тем не менее, геном морской анемоны *Nematostella* кодирует многие транскрипционные факторы (по крайней мере, семь), ключевые для дифференцировки мезодермы билатеральных животных (Erwin, 2009); у *Nematostella* они экспрессируются вблизи бластопора (гены *brachyury* и *forkhead*), во всей энтодерме (*snail*) или ее части (*twist*). Вероятно, анцестральные функции этих генов были связаны с гаструляцией и/или дифференцировкой энтомезодермы; анцестральные генные сети были рекрутированы для дифференцировки мезодермы и, в частности, миогенеза у Bilateria (Technau, 2010). В геноме *Nematostella* присутствуют и гены, используемые для становления дорсо-вентральной оси Bilateria. Была исследована экспрессия и функции *decapentaplegic* (*dpp*), *chordin* и других генов, связанных с детерминацией дорсо-вентральной оси. Экспрессия *dpp* и *chordin* начинается на стадии ранней гаструлы вокруг бластопора, затем смещается на одну сторону бластопора, становясь асимметричной; выключение экспрессии *dpp* и *chordin* приводит к радиализации (см. Technau, 2010; Technau et al., 2015).

Геномы книдарий лишены немногих ключевых консервативных факторов транскрипции, вовлекаемых в формирование и дифференцировку мезодермы билатерий, например, MyoD; у книдарий присутствует большинство кодирующих мышечные белки генов, но отсутствуют гены, кодирующие титин и тропонины (Steinmetz et al., 2012). В нейрогенезе книдарий играют роль некоторые важные консервативные нейрональные детерминанты, но появление NeuroD – новшество билатерий (Technau et al., 2015).

Позвоночные животные, включая человека, унаследовали не менее двух третей своих генов от предка, общего с книдарией *Nematostella*, тогда как дрозофила и нематода *Caenorhabditis elegans* получили от того же общего предка соответственно лишь около 50 % и 40 % своих генов (Putnam et al., 2007; Technau, 2010). Таким образом, эти широко изучаемые модельные объекты потеряли в ходе эволюции половину или бóльшую часть предковых генов. Структурное соотношение интронов и экзонов ортологичных генов геномов современных Holozoa, Cnidaria, Placozoa, Porifera и Bilateria привело к заключению, что анцестральный геном животных был богат интронами. Анализ генома морской анемоны *Nematostella vectensis* выявил, что богатая интронами структура – анцестральное состояние, по крайней мере, для последнего общего предка книдарий и билатерий (Technau et al., 2015). Поддержание анцестральной генной структуры оказалось распространенной чертой геномов животных. Губки, трихоплакс, книдарии и человек сохранили анцестральные интроны в высокой пропорции (70–90 %). Около 80 % всех позиций анцестральных интронов оказались консервативными у *Nematostella* и позвоночных, тогда как *Drosophila* и *C. elegans* имеют только 20 % таких консервативных последовательностей (см. Putnam et al., 2007; Miller, Ball, 2008; Srivastava, 2015; Technau et al., 2015). Итак, гены позвоночных богаты анцестральными интронами, тогда как *Drosophila* и *C. elegans* потеряли 50–90% таких интронов. Хотя интроны исключаются из кодирования конечной структуры белка, они играют важную роль как источник некодирующих РНК, а также в альтернативном сплайсинге (см. Srivastava, 2015).

Анализ синтении, т.е. порядка расположения и пространственной близости локализации генных последовательностей на хромосомах показал, что гены, предположительно связанные на сегментах хромосом общего предка Metazoa, поддерживают тесную связь в геномах *Trichoplax* (Placozoa), *Amphimedon* (Porifera), *Nematostella* (Cnidaria) и позвоночных (человека), несмотря на значительное изменение порядка генов (см. Srivastava, 2015). Таким образом, анцестральная хромосомная связь многих генов сохраняется у современных животных. По контрасту с таким эволюционным консерватизмом синтении у названных представителей многоклеточных животных, геномы дрозофилы и *C. elegans* претерпели существенную перестройку и утратили анцестральную связь многих генных блоков (см. Srivastava, 2015).

Еще одно свидетельство сохранения книдариями и позвоночными большего числа анцестральных молекулярных черт по сравнению с представителями Ecdysozoa – данные по численности субсемейств сигнальной системы Wnt. У позвоночных найдено 12 субсемейств Wnt, у *D. melanogaster* – 6, у *C. elegans* – лишь 3. Поразительно, что у *Nematostella* идентифицировано 12 субсемейств; по сравнению с позвоночными отсутствует только Wnt9; одно из субсемейств (WntA) – общее с первич-

норотыми (Kusserow et al., 2005; Lee et al., 2006). Вероятно, общий предок книдарий и билатерий обладал уже полным набором субсемейств Wnt, в то время как значительная часть этой генетической сложности была потеряна у представителей Ecdysozoa (Kusserow et al. , 2005; Lee et al., 2006; Technau et al., 2015).

Очевидно, что данные сравнительной геномики свидетельствуют о высокой сложности предкового генома Eumetazoa, кодировавшего большинство биологических процессов у высоко организованных представителей Metazoa вплоть до позвоночных. Геном *Nematostella* проявляет удивительную степень сходства с геномами позвоночных, но подобное сходство отсутствует у дрозофилы и нематоды. Многие найденные у книдарий гены и сигнальные пути еще недавно рассматривали как эволюционные инновации хордовых, которых лишены Ecdysozoa (см. Technau, 2010). В эволюционных линиях книдарий и позвоночных выявлена консервативность генома: наследование большинства предковых генов и в значительной мере сохранение исходного порядка расположения генных последовательностей в хромосомах по сравнению с дрозофилой и *C. elegans* (Putnam et al., 2007; Technau, 2010). Бóльшая степень сходства генома *Nematostella* с геномами позвоночных, а не дрозофилы и нематоды, ведет к предположению о существенной эволюционной модификации линии Ecdysozoa (Levinton, 2008).

Таким образом, несмотря на видимую морфологическую простоту книдарий, их генный репертуар (на примере *Nematostella*) удивительно сложен и значительно ближе к таковому хордовых, нежели представителей Ecdysozoa, что противоречит традиционным взглядам на филогению многоклеточных животных (Baguña et al., 2008; Erwin, 2009). Присутствие генетического «инструментария», обеспечивающего «билатеральное» развитие (Erwin, 2009) и разнообразие транскрипционных факторов и генов сигнальных путей у современных книдарий, контрастирует с их видимой морфологической простотой и небольшим числом клеточных типов (Srivastava, 2015). Возможно, трехслойность возникла до эволюционного ответвления книдарий. а двуслойность гидры и многих других современных книдарий – производное, вторично возникшее состояние, тогда как последний общий предок книдарий и билатерий обладал генным репертуаром, обеспечивающим прохождение онтогенеза, билатеральность, трехслойность, клеточную сигнализацию, адгезию, специализацию эпителиальных, нейронных и мышечных клеток, а также апоптоз (см. Erwin, 2009; Srivastava, 2015). Определенные семейства генов претерпели экспансию, коррелирующую с видимым увеличением морфологической сложности, но требуется и переоценка видимой «простоты» не билатеральных животных (Srivastava, 2015). Возможно, современные представители Cnidaria и Placozoa представлены обедненными остатками ранней фауны эдиакария (Erwin, 2009).

Эволюция регуляторных систем: транскрипционные факторы

Важнейшая роль в контроле индивидуального развития и эволюционной дивергенции Eukaryota принадлежит регуляторным генам, кодирующим транскрипционные факторы (Copley, 2008; Graaff et al., 2009; Srivastava et al., 2010; Sebé-Pedrós et al., 2010, 2011, 2013; Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015). На основании анализа филогенетического распределения транскрипционных факторов выделяют две группы этих регуляторов: панэукариотические, общие для всех Eukaryota, и специфичные для отдельных линий транскрипционные факторы (см. Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015).

Регуляторная функция транскрипционных факторов, играющих решающую роль в контроле тканеспецифической дифференциальной экспрессии генов, осуществляется путем связывания с энхансерными или промоторными последовательностями ДНК. Различные семейства и классы транскрипционных факторов эукариот характеризуются присутствием специфического ДНК-связывающего домена. Важными регуляторами дифференцировки и формообразования Metazoa являются семейства гомеодоменных транскрипционных факторов, которые кодируются генами, содержащими 180-нуклеотидный гомеобокс. Гомеодомен состоит из 60 аминокислотных остатков, упакованных в три α-спирали. Мотив, образуемый второй и третьей спиралью, представлен структурой «спираль-поворот-спираль». Третья спираль распознает последовательности ДНК и сайт-специфическим образом входит в большую бороздку спирали ДНК (см. Erwin, 2009; Гилберт, 2010; Merabet et al., 2010; Корчагина и др., 2010; Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015).

В эту группу транскрипционных факторов входят несколько семейств. Это представители сем. Hox, которые регулируют морфогенез осевых структур развивающегося зародыша; сем POU, контролирующие процессы нейрогенеза и развития гипофиза; сем. LIM, участвующие в развитии структур головы; сем. Pax, регулирующие нейральную дифференцировку и развитие глаз (см. Гилберт, 2010). Сем. транскрипционных факторов bHLH (basic helix-loop-helix) участвует в спецификации скелетных мышц и нервной системы, развитии пигментации, детерминации пола у дрозофилы. Функции сем. факторов транскрипции bZip (basic leuzine zipper) – регуляция дифференцировки печени, спецификация жировых клеток. Семейство факторов «цинковые пальцы» (ZnF) включает подсемейство ядерных рецепторов (рецепторы глюкокортикоидов, эстрогена, тестостерона, ретиноевой кислоты), которые контролируют формирование вторичных половых признаков, черепно-лицевых структур, развитие конечностей; подсемейство стандартных «цинковых пальцев», участвующих в регуляции формирования почек, гонад, а также дифференцировки макрофагов. Сем. факторов транскрипции Sry-Sox конт-

ролирует первичную детерминацию пола у млекопитающих, дифференцировку эктодермы (см. Гилберт, 2010).

Экспансия древних семейств транскрипционных факторов была эволюционным источником их диверсификации и эволюционных инноваций. Присутствие специфичных для грибов, растений и животных кластеров генов, кодирующих транскрипционные факторы, свидетельствует о наличии собственных эволюционных сценариев для этих организмов. Таким образом, анцестральные типы транскрипционных факторов динамично эволюционировали путем экспансии генных семейств; новые факторы транскрипции были добавлены к предковому набору в линиях, которые вели к грибам, растениям и животным (Copley, 2008; Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015).

Несмотря на поразительное разнообразие планов строения многоклеточных животных, генетический инструментарий контроля развития и формирования плана строения организма в значительной мере оказывается общим для всех животных (см. Erwin, 2009). У Metazoa многие транскрипционные факторы, принадлежащие к числу структурно и функционально консервативных семейств, кодируются гомеобокс-содержащими генами, которые играли важнейшую роль в эволюции развития животных.

Гены, содержащие гомеобокс, присутствуют у всех эукариотических организмов (см. Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015). Одноклеточные предки Metazoa, по всей вероятности, обладали немногочисленными генами, содержащими гомеобокс, наряду с генами, кодирующими другие транскрипционные факторы. Геномный репертуар одноклеточного амебоидного организма *Capsaspora owczarzaki* (Holozoa) включает 17 общих с Metazoa транскрипционных факторов (см. Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015). У одноклеточных родственников Metazoa мало генов, содержащих гомеобокс; например, изученные представители Choanoflagellata имеют два таких гена, принадлежащих к суперклассу TALE (King et al. 2008; Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015). У хоанофлагелляты *Monosiga brevicollis* найдены гены, кодирующие транскрипционные факторы нескольких семейств, общих с Metazoa, но отсутствуют многие семейства транскрипционных факторов (HOX, POU, T-бокс), характерных для многоклеточных животных (King et al., 2008; Copley, 2008; Erwin, 2009).

Вероятно, анцестральный геном Metazoa уже включал представителей семейств генов bHLH, Mef2, Fox, Sox, Tbox, ANTP, Pax, POU, Six, TALE и другие консервативные генные семейства. Возникновение и эволюция многоклеточных животных сопровождались резким возрастанием числа и разнообразия транскрипционных факторов по сравнению с другими эукариотами (Erwin, 2009; Sebé-Pedrós et al., 2010, 2011, 2013; Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015). Макроэволюционные приобретения и потери Metazoa в значительной мере обусловлены контролем плана стро-

ения организма генными регуляторными сетями, включающими многие регуляторные гены, среди которых принципиально важную роль играют *Hox*-гены. Появление крупных таксонов Metazoa было связано с дупликациями, дивергенцией и стремительной экспансией регуляторных генов многих семейств, в частности, содержащих гомеобокс генов класса ANTP, который включает семейства Hox, ParaHox и NK (см. Holland, Takahashi, 2005; Корчагина и др., 2010; Ferrier, 2010). Гены класса ANTP, ключевые регуляторы морфогенетических процессов, обнаружены только у Metazoa.

Основные семейства транскрипционных факторов, характерных для билатеральных животных, найдены уже у губки *Amphimedon queenlandica*, трихоплакса *Trichoplax adhaerens* и книдарии *Nematostella vectensis*, т.е. возникли до дивергенции этих ветвей Metazoa (см. Srivastava et al., 2008; Erwin, 2009). У губок Demospongia идентифицированы гены, кодирующие транскрипционные факторы класса ANTP (семейства NK) и гены нескольких других классов (Pax, POU, T-box, Sox, Mef2, PRD и LIM) (Larroux et al., 2008; Erwin, 2009). В частности, у губок найдены транскрипционные факторы Sox и Pax, характерные для нейральных дифференцировок (Larroux et al., 2008; Ferrier, 2010). У Demospongia относительно мало генов каждого класса; предполагается, что губки обладают более ограниченным регуляторным инструментарием по сравнению с Eumetazoa и, вероятно, потеряли ряд транскрипционных факторов, включая гены класса ANTP (Erwin, 2009). У книдарии *Nematostella* присутствуют уже 56 семейств транскрипционных факторов (Ryan et al., 2007; Erwin, 2009).

У Eumetazoa гены, кодирующие транскрипционные факторы, претерпели существенную экспансию и диверсификацию и включают ряд новых генных семейств и классов (Holland, Takahashi, 2005; Larroux et al., 2007; Degnan et al., 2009). В эволюции Bilateria численность содержащих гомеобокс генов существенно возрастает (Larroux et al., 2008; Erwin, 2009; Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015). Эволюционные события, формирующие «TFome» (совокупность кодирующих транскрипционные факторы генов как часть генома), включают, помимо экспансии генных семейств, возникновение генов *de novo* и кооптацию генов (Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015).

Богатство репертуара транскрипционных факторов многоклеточных животных в значительной мере объяснимо дупликациями целого генома в некоторых группах животных, в частности, у позвоночных, а также дупликациям отдельных генов. Например, независимые тандемные дупликации генов, которые кодируют транскрипционные факторы, содержащие домен ZnF, привели к резкому увеличению числа таких генов у отдельных видов насекомых и тетрапод – до десятков и сотен копий (см. Copley, 2008). Быстрый процесс дупликации с последующей функцио-

нальной диверсификацией характерен для семейств генов гомеобокса многоклеточных животных (Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015). Генные дупликации генерировали большой набор генов ANTP класса, включающих генные кластеры Hox, ParaHox и NK (Holland, 2015; см. ниже). Альтернативный сплайсинг как механизм увеличения протеомной сложности также играл определенную роль в увеличении разнообразия транскрипционных факторов таких семейств, как Hox, SMAD и T-бокс; показано, в частности, что 63% транскрипционных факторов мыши включают различные варианты экзонов (Taneri et al., 2004; Copley, 2008).

Независимо от филогенетических связей, наименьшее количество транскрипционных факторов найдено у паразитических представителей Eukaryota и Metazoa, что служит примером конвергентного упрощения (см. Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015).

Сходство и различия генетического контроля развития у животных и растений

Монофилетические царства растений и животных эволюционировали независимо, поэтому многие молекулярные механизмы их развития различны, однако существует и значительное сходство (Friedman et al., 2004; Willemsen, Scheres, 2004; Langdale, Harrison, 2008; Graaff et al., 2009). Как и у Metazoa, транскрипционные факторы регулируют судьбу клеток, развитие и формообразование Metaphyta; эволюция эукариотических генов, кодирующих факторы транскрипции, связана с процессами дупликации и диверсификации этих генов (Levine, Tjian, 2003; Richardt et al., 2007; Lang, Rensing, 2015).

Цветковые растения способны многократно в течение всей жизни формировать органы из стволовых клеток апикальных меристем, локализованных на вершинах побегов и корней (Graham et al., 2000; Lohman, 2008; Rutishauser et al., 2008; Graaff et al., 2009; Stahl, Simon, 2010; Альберт, Ежова, 2013). Основные переходы в развитии наземных растений связаны с переключением судьбы меристемных клеток, развитием побега и корня, листьев, цветка. Судьба стволовых клеток меристем растений детерминируется регуляторными генами, кодирующими транскрипционные факторы классов WOX, KNOX и MADS, включающих как общие для всех эукариотических организмов, так и специфические для растений генные семейства (см. Reyes et al., 2006; Lohman, 2008; Graaff et al., 2009; Альберт, Ежова, 2013). Эти гены контролируют у растений такие ключевые процессы развития, как создание общего плана строения зародыша, поддержание стволовых клеток меристемы, дифференцировка зачатков и формирование органов, переключение программы при переходе от вегетативного развития к цветению (см. Lohman, 2008; Graaff et al., 2009).

Идентифицированы и охарактеризованы гены, определяющие развитие цветка, листа и корня. Генетический анализ проведен главным образом на модельном покрытосеменном растении семейства крестоцветных, *Arabidopsis thaliana*. У этого вида идентифицировано около 100 генов, которые кодируют факторы транскрипции, принадлежащие преимущественно к классу MADS-бокса. Помимо *A. thaliana*, гены MADS-бокса и их роль в развитии цветка идентифицированы и у других видов, например, *Antirrhinum majus* и *Zea mays* (Friedman et al., 2004; Reyes et al., 2006; Tan, Irish, 2006).

Семейство генов, содержащих MADS-бокс, который кодирует высоко консервативный ДНК-связывающий домен, состоящий из 168-180 пар оснований, относится к общим для всех Eukaryota (Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015; Lang, Rensing, 2015). Гены MADS-бокса играют важную регуляторную роль в процессах развития животных, растений и грибов; предполагается, что общий предок этих царств эукариот уже обладал по крайней мере одним геном, содержащим MADS-бокс (Theissen et al., 2000). Семейство этих генов разделяется на три большие ветви, из которых две группы генов найдены только у животных и грибов, тогда как третья – только у растений.

У билатеральных животных специфичная для поперечно-полосатых мышц генная экспрессия контролируется генами сем. bHLH, которые кодируют транскрипционные регуляторы класса Mef2 (Erwin, Davidson, 2002). Белок MEF2 (myocyte enhancer factor 2), принадлежащий к эволюционно древнему семейству MADS, является фактором транскрипции, контролирующим клеточную дифференцировку и органогенез; его экспрессия обнаружена во многих типах клеток, включая нейроны, хондроциты и мышцы. MEF2 выполняет также роль медиатора эпигенетических регуляторных программ, вовлекающих изменения хроматина и модуляции микроРНК (Erwin, Davidson, 2002; Potthoff, Olson, 2007).

Транскрипционные факторы, кодируемые генами MADS-бокса, выполняют ключевые функции переключателей программ развития цветковых растений, включая регуляцию времени цветения, образование цветка и плода (Theissen et al., 2000; Irish, 2006). Отмечен поразительный параллелизм способа действия генов, содержащих MADS-бокс, с действием *Hox*-генов животных (Ng, Yanofsky, 2001). В отличие от *Hox*-генов животных, организованных, как правило, в геномные кластеры, гены MADS-бокса растений рассеяны по всему геному.

У цветковых растений гены MADS-бокса действуют как селекторные гены детерминации флоральной меристемы. Развитие чашелистиков, лепестков, тычинок и пестика детерминируется множеством транскрипционных факторов, кодируемых селекторными генами группы ABC – генами идентичности флоральных органов; все эти гены, за исключением одного, содержат последовательность MADS-бокса. Судьба чашели-

стиков определяется экспрессией транскрипционных факторов класса А, лепестков – классов А и В, тычинок – В и С, пестика – экспрессией факторов транскрипции класса С. Выключение или эктопическая экспрессия приводит к их трансформации: например, ген *Apetala-1 (AP1)* вызывает гомеотическую трансформацию двух наружных слоев в два внутренних. В этом случае, как и при гомеотических мутациях у животных, сохраняется общее число модулей, но изменяется их идентичность (Theissen et al., 2000; Willemsen, Scheres, 2004). Изменения структуры и функции генов MADS-бокса, по-видимому, привели к таким инновациям в эволюции наземных растений, как формирование семени, цветка и плода (Theissen et al., 2000). Базовый механизм цветения консервативен у различных видов цветковых растений и, вероятно, возник у древних цветковых (Ng, Yanofsky, 2001).

Фактор транскрипции WUSCHEL (WUS) – член WUS-семейства специфичных для растений транскрипционных факторов WOX, которые содержат консервативный домен, связывающийся с ДНК (Graaff et al., 2009; Yadav et al., 2011). Белки WOX регулируют ключевые события развития растений. WUSCHEL впервые экспрессируется у 16-клеточного зародыша и остается ограниченным центральной областью меристемы. Это маркер идентичности апикальной меристемы побегов; его функции связаны с регуляцией клеточных делений, поддержанием гомеостаза стволовых клеток и предотвращением их преждевременной дифференцировки (Lohman, 2008; Graaff et al., 2009; Yadav et al., 2011).

Недетерминированность клеток апикальной меристемы поддерживается активностью другого транскрипционного фактора, содержащего специфичный для растений домен KNOX (Langdale, Harrison, 2008). Стволовые клетки растений, как и у животных, способны переключаться с программы пролиферации на программу дифференцировки. Гены s*hoot meristemless* у *Arabidopsis,* а также *knotted1* у кукурузы кодируют факторы транскрипции класса KNOX. Экспрессия этих генов специфична для недетерминированных клеток апикальной меристемы и прекращается, когда клетки вступают на путь дифференцировки (см. Smith et al., 2002; Tan, Irish, 2006; Lohman, 2008).

Переключение программы развития с вегетативной на репродуктивную, т.е. цветению (флоральный переход) - критический период в онтогенезе растений. При таком переходе апикальная меристема побега продуцирует латеральные цветочные меристемы, каждая из которых дает отдельный цветок. Клетки периферической зоны меристемы формируют флоральный зачаток, в котором активируется экспрессия генов семейства *WUS*, приводящая к установлению флоральной меристемы и образованию цветка (см. Lohman, 2008). Транскрипционный фактор WUS активирует экспрессию гена флоральной идентичности *AGAMOUS,* содержащего MADS-бокс; AGAMOUS, в свою очередь, способен репрес-

сировать транскрипцию *WUS*. Прекращение экспрессии этого гена ведет к дифференцировке стволовых клеток и завершению активности меристемы (Graaff et al., 2009).

У высших растений содержащие гомеобокс гены семейств *KNOX* и *WOX* играют ключевую роль в поддержании пула стволовых клеток меристем, регулируют пролиферацию и предотвращают преждевременную дифференцировку клеток. Белки KNOX содержат также второй домен, аминокислотные последовательности которого сходны с найденными у животных в транскрипционных факторах MEIS. Это сходство вызвало предположение о происхождении белков MEIS и KNOX от общего предкового гена (Smith et al., 2002).

Генетический контроль морфогенеза: роль *Hox*-генов в развитии билатеральных животных

Система *Hox*-генов – ключевых регуляторов морфогенеза, определяющих общий план строения тела билатеральных животных, играет важнейшую роль в эволюционных преобразованиях онтогенеза (см. Akam, 1998a, b; Холланд, Гарсия-Фернандес, 1987; Holland, 2001; Carroll et al., 2005; Monteiro, Ferrier, 2006; Ferrier, 2010; Гилберт, 2010). Как известно, *Hox*-гены – гены-архитекторы плана строения билатеральных животных, контролирующие региональные различия экспрессии генов-мишеней, которые транслируются затем в осевые различия строения зародыша (Valentine, Hamilton, 1997; Akam, 1998a; Gould, 2002; Carroll et al., 2005; Papageorgiou, 2007; Baguña et al., 2008; Гилберт, 2010; Putnam et al. 2008; Srivastava, 2015). Иначе говоря, *Hox*-гены функционируют как механизм формирования плана строения вдоль переднезадней оси билатеральных животных (Nielsen, 2012). Результаты исследования *Hox*-генов столь впечатляющи, что С. Гулд (Gould, 2002) называл это направление «Hox-ологией» (Hoxology).

Гены группы *Hox/HOM* содержат последовательности гомеобокса, кодирующие ДНК-связывающий гомеодомен, характерный для транскрипционных факторов класса ANTP (см. Carroll et al., 2005; Holland, Takahashi, 2005). Эти факторы транскрипции контролируют осевой план строения и сегментацию тела, формирование глаз, нервной системы и другие важнейшие процессы развития и морфогенеза билатеральных животных (см. Carroll et al., 2005; Davidson, 2006; Корчагина и др., 2010; Levinton, 2008; Бакаленко и др., 2012).

Изменение экспрессии *Hox*-генов может приводить к фундаментальным морфофункциональным сдвигам с крупным изменением плана строения. Различия функций *Hox* генов между разными таксонами животных сравнимо с эффектом крупных гомеозисных мутаций, т.е. макроэволюционными изменениями (Akam, 1998a, b). Открытие этих генов

стало результатом изучения знаменитых гомеозисных мутаций дрозофилы, определяющих преобразование сегмента одного типа в сегмент другого типа с превращением одной части тела в другую. Кстати, обозначение генного класса ANTP, к которому относятся *Hox*-гены – аббревиатура названия гомеозисной мутации дрозофилы, *Antennapedia*, которая вызывает развитие ноги вместо антенны. Гомеозисные мутации могут нарушать локализацию регионов экспрессии *Hox*-генов, в результате чего структуры, характерные для определенных областей тела, возникают эктопически (т.е. представляют собой гетеротопии) или исчезают. Множество классических примеров иллюстрируют возникновение гетеротопий в результате мутаций *Hox*-генов.

Структурная и функциональная консервативность транскрипционных факторов, кодируемых *Hox*-генами, чрезвычайно велика: от мухи до человека эти гены в большинстве случаев ортологичны. Функциональная консервативность подтверждается экспериментами по компенсации эффекта мутации гена *labial* у *Drosophila melanogaster* путем трансформации мух с использованием ортолога *labial* – гена *Hox-b1* цыпленка (Lutz et al, 1996). Ортологичность *Hox*-генов отчетливо демонстрируется и в экспериментах по нормализации фенотипа мутантов дрозофилы генами млекопитающих, например, дефект *Antennapedia* компенсируется геном мыши *Hox b-6* (Ruddle et al., 1994).

Колинеарность экспрессии генов *Hox*-кластера

Генетические механизмы, детерминирующие переднезадний план строения тела и весь комплекс основных черт билатеральных животных, связаны с порядком расположения функционирующих *Hox*-генов. У этих генов выявлен высокий консерватизм синтении как порядка расположения и пространственной близости генных последовательностей на хромосомах всех Metazoa от книдарии *Nematostella* до человека (Duboule, 2007; Holland et al., 2008; Putnam et al. 2008; Copley 2008; Корчагина и др., 2010; Tschopp, Duboule, 2011; Бакаленко и др., 2012; David, Mooi, 2014; Srivastava, 2015). Как правило, *Hox*-гены располагаются на хромосоме (или хромосомах) кластерами. Важнейшее свойство экспрессии этих генов – проявление колинеарности.

Пространственная колинеарность

Кластерная организация *Hox*-генов – структурное свидетельство их происхождения путём тандемных внутригеномных дупликаций при возникновении Eumetazoa (см. Copley 2008; Makino et al., 2009; Tschopp, Duboule, 2011). Кластер *Hox*-генов и его эволюционно сестринский кластер *ParaHox*-генов определяют паттерн переднезадней оси животного (Tschopp, Duboule, 2011). В ходе развития билатеральных животных ак-

тивация различных генов *Hox*-кластера, как и появление зачатков основных осевых структур тела, обычно происходит последовательно в переднезаднем направлении, что соответствует принципу пространственной колинеарности – корреляции между положением гена в *Hox*-кластере и расположением зон их экспрессии вдоль оси тела.

Пространственная колинеарность означает, что хромосомное расположение *Hox*-генов в кластере в направлении от 3'- к 5'-концу коррелирует с местом их экспрессии вдоль переднезадней оси эмбриона. Таким образом, гены *Hox*-кластера выполняют фундаментальную функцию кодирования позиционной информации вдоль переднезадней оси Bilateria и создания векторного градиента этой информации в индивидуальном развитии (Akam, 1998f, b; Hübner, 2005; Duboule, 2007; Holland et al., 2008; Putnam et al., 2008; Ferrier, 2010; Spitz, 2010; Корчагина и др., 2010; Бакаленко и др., 2012; David, Mooi, 2014). Это означает, что пространственное расположение (осевая симметрия) *Hox*-генов в кластерах у Annelida, Arthropoda, Chordata картируется в паттерн их экспрессии и осевой паттерн будущего животного (Minelli, 2003; рис. 15).

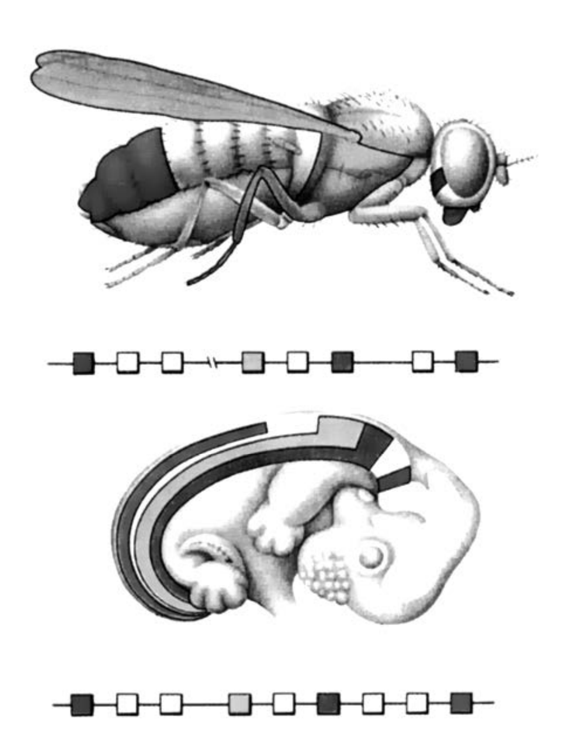


Рис. 15. Колинеарность расположения гомологичных *Hox*-генов в хромосомных кластерах и контролируемых ими регионов у дрозофилы и мышиного зародыша (по Лима-де-Фариа, 2012).

Пространственная колинеарность экспрессии отчетливо выражена у представителей большинства крупных исследованных таксонов билатеральных животных: аннелид, членистоногих, хордовых. Например, *Hox*-гены дрозофилы представляют классический пример пространственно упорядоченной экспрессии вдоль основной оси тела и отвечают за формирование позиционной информации, необходимой для построения плана организации тела зародыша. *Hox*-кластер дрозофилы разорван и образует два комплекса: Antennapedia (*Antp-C*) и и Bithorax (*BX-C*). Порядок расположения генов в этих двух комплексах и *Hox*-комплексах млекопитающих соответствует порядку расположения сегментов зародышей насекомых и млекопитающих, развитие которых контролируется соответствующими генами, т.е. наблюдается колинеарность расположения генов в хромосоме и локализации их экспрессии вдоль переднезадней оси развивающегося организма (см. Рэфф, Кофмен, 1986; Carroll et al., 2005; Ferrier, 2010; Гилберт, 2010) (рис. 15).

Временнáя колинеарность

Помимо пространственной колинеарности экспрессии *Hox*-генов, существует и временнáя, хронологическая колинеарность – последовательность генной экспрессии, когда «передний» ген (ассоциированный с 3'-концом хромосомного кластера) активируется раньше соседнего гена, ассоциированного с 5'-концом (Duboule, 2007; Holland et al., 2008; Putnam et al., 2008; Ferrier, 2010; Корчагина и др., 2010; David, Mooi, 2014).

Временнáя колинеарность экспрессии *Hox*-генов делает последовательность активации этих генов основой «расписания» развития и преобразования очередности активации различных генов данного кластера в последовательность территорий, различающихся набором работающих генов (Akam, 1998a; Андреева, Кулакова, 2008; Корчагина и др., 2010; Tschopp, Duboule, 2011). Этот временнóй порядок экспрессии генов *Hox*-кластера был назван *Hox*-часами (Duboule, 1994). В частности, у позвоночных гены этих кластеров, локализованные на 3'-конце кластера, первыми становятся транскрипционно активными, позже последовательно инициируется экспрессия генов по направлению к 5'-концу кластера (Monteiro, Ferrier, 2006).

Колинеарность пространственного порядка расположения генов *Hox*-кластера вдоль хромосомы и пространственно-временнóй последовательности их экспрессии вдоль переднезадней оси зародыша определяет региональные различия вдоль оси тела развивающегося животного (Lewis, 1978; Akam, 1998a, b; Корчагина и др., 2010; Tschopp, Duboule, 2011; Бакаленко и др., 2012). Пространственная и временнáя регуляция генов тесно связана с порядком расположения генов в кластере (Tschopp, Duboule, 2011). Другими словами, колинеарность *Hox*-генов транслирует, переносит пространственный порядок генов в *Hox*-кластере в про-

странственно-временно́й порядок их экспрессии и осевой паттерн зародыша. Кластер *Hox*-генов и его эволюционно сестринский кластер *ParaHox*-генов определяют паттерн переднезадней оси животного и построение организма билатеральных животных, столь различного у червей, насекомых, иглокожих и позвоночных (Ferrier, Holland, 2001).

Таким образом, пространственное расположение (осевая симметрия) генов в *Hox*-кластерах у Annelida, Arthropoda, Chordata картируется в паттерн их экспрессии и осевой паттерн будущего животного (Minelli, 2003). Явление колинеарности *Hox*-генов – единственный однозначный пример отображения, картирования пространственного порядка расположения генов и временно́го порядка их экспрессии в процессе развития в осевую морфологию организма (Isaeva et al., 2012). Пространственно-временна́я колинеарность, по-видимому, оперирует в различных регионах развивающегося организма в нескольких локальных контекстах (например, в осевой мезодерме, нервной системе, почке конечности), направляя процесс формообразования в каждом отдельном регионе (Monteiro, Ferrier, 2006).

Два типа колинеарности могут быть разобщены механистически. У исследованных животных с фрагментированным или разорванным *Hox*-кластером, например, у дрозофилы или оболочников, временна́я колинеарность отсутствует (Ikuta et al., 2004; Seo et al., 2004; Андреева, Кулакова, 2008; Корчагина и др., 2010; Tschopp, Duboule, 2011). Среди оболочников (Urochordates) у аппендикулярии *Oikopleura* найдена полная дезинтеграция кластера с разрушением временнуй колинеарности при сохранении элементов пространственной *Hox*-колинеарности (Monteiro, Ferrier, 2006). Таким образом, временна́я колинеарность не универсальна, у представителей различных таксонов билатеральных животных найдены нарушения этой формы колинеарности при дезорганизации целостности *Hox*-кластера. При этом сохраняется упорядоченная транскрипция *Hox*-генов вдоль переднезадней оси, т.е. пространственная колинеарность экспрессии *Hox*-генов не зависит от их упорядоченного расположения в кластере (Seo et al., 2004; Ikuta et al., 2004; Ikuta, Saiga, 2005, 2007; Корчагина и др., 2010; Ikuta, 2011; Tschopp, Duboule, 2011).

Количественная колинеарность

У млекопитающих найдено три формы колинеарности *Hox*-генов (Monteiro, Ferrier, 2006). Помимо пространственной и временно́й колинеарности, при развитии конечности млекопитающих обнаружена количественная колинеарность. Этот вид колинеарности проявляется как в наиболее высоком уровне экспрессии мРНК гена *Hoxd13*, локализованного на 5'-конце кластера и ближайшего к энхансеру, так и в последовательном падении эффективности транскрипции расположенных рядом «задних» *Hox*-генов (см. Ferrier, Munguillon, 2003; Monteiro, Ferrier, 2006;

Tschopp, Duboule, 2011). Известно, что упорядоченная экспрессия отдельных *Hox*-генов в почке конечности мыши может быть экспериментально нарушена, если изменить их позицию относительно 3'- и 5'-концов кластера (Tarchini, Duboule, 2006; Tschopp, Duboule, 2011).

Таким образом, связь экспрессии *Hox*-генов с их позицией внутри кластера наиболее выражена у млекопитающих. Последовательные дупликации комплекса *Hox*-генов дали возможность дальнейшего вовлечения этих генов в выполнение новых функций, связанных с крупными инновациями строения тела позвоночных (Lanfear, 2010; Spitz, 2010). Как и в случае с временнóй колинеарностью, количественная колинеарность ведет к проявлению пространственной колинеарности. У млекопитающих эволюция кластеров *Hox*-генов тесно связана с регуляцией их транскрипции в пределах кластера (Tschopp, Duboule, 2011).

Кластеризация *Hox*-генов, обеспечивающая молекулярную, пространственную и временнýю колинеарность их экспресии, рассматривается как универсальный механизм, связывающий структурную организацию этих генов и их активность вдоль переднезадней оси (Aboobaker, Blaxter, 2010; Spitz, 2010; David, Mooi, 2014). Существуют энхансеры, которые координируют работу *Hox*-кластера позвоночных как единого комплекса (см. Duboule, 2007; Корчагина и др., 2010; Tschopp, Duboule, 2011). В период ранней осевой активации *Hox*-кластера в первичной полоске важную роль играют градиенты морфогенов и сигнальные пути Fgf и Wnt. В основе колинеарной экспрессии *Hox*-генов лежат, по-видимому, и другие механизмы. Вероятно, временнóй контроль над экспрессией *Hox*-генов в эмбриогенезе позвоночных включает также модуляцию конформации хроматина (Monteiro, Ferrier, 2006). Эта регуляторная пластичность могла быть унаследована от общего предка билатеральных животных, у которого, вероятно, уже существовала система создания и поддержания позиционной информации за счет *Hox*-генов. При консерватизме кодирующей части проявляется вариабельность на уровне регуляторных зон этих генов и их мишеней, т.е. «*Hox*-формула» оказывается весьма пластичной (Baguña et al., 2008; Корчагина и др., 2010).

Степень участия *Hox*-генов в контроле плана строения различных животных и особенности регуляции паттерна развивающегося организма значительно варьируют. Эти гены могут участвовать в различных морфогенетических программах; их функция может осуществляться путем аксиально-упорядоченной (позвоночные, членистоногие) или «хаотичной» экспрессии (головоногие). Гомологичные *Hox*-гены могут контролировать и негомологичные структуры: у дрозофилы ген *Abd-B* регулирует развитие заднего сегмента, тогда как у человека один из его ортологов, *HoxD13*, вызывает синполидактилию пальцев конечностей – эволюционных новообразований наземных позвоночных (Muragaki et al., 1996).

Выпадение экспрессии одного *Hox*-гена либо нарушение порядка расположения генов в *Hox*-кластере может вызвать крупномасштабную гетеротопию с макроэволюционным преобразованием строения организма. Сдвиги временно́й последовательности активации кластерных *Hox*-генов продуцируют гетерохронии, которые могут играть важную эволюционную роль. Множество и сложность генетических переключений, связанных с этими генами, дают эволюционные возможности неограниченного числа путей гетерохронии (McNamara, 1986, 2002). Кластерные *Hox*-гены функционируют подобно генам гетерохроний, определяющих «стрелу времени» онтогенеза (Smith, 2003). Эти гены, выполняющие функции регионализации вдоль переднезадней оси развивающегося организма, можно назвать генами гетеротопий. Таким образом, контролирующие пространственно-временну́ю организацию тела билатеральных животных *Hox*-гены функционируют как гены гетеротопий и гетерохроний.

Эволюционные преобразования системы *Hox*-генов

Предполагается, что контроль эмбриогенеза *Hox*-генами подготовил молекулярно-генетическую базу «кембрийского взрыва», обеспечив комбинаторное усложнение генетических программ морфогенеза билатерий за счет дупликаций *Hox*-генов и усложнения регуляции программ развития (Erwin, Davidson, 2002; Davidson, 2006; Carroll, 2008; Holland, 2015). В этот период (540–515 млн лет назад) началась активная жизнь Bilateria, произошло увеличение размера тела и сложности организации, быстро возрастало разнообразие, появлялись новые планы строения и новые типы животных (см. Holland, 2015). Вероятно, возникновение *Hox*-генов и *Hox*-системы как комплекса координированно действующих генных регуляторов плана строения предшествовало радиации Bilateria, и «кембрийский взрыв» разнообразия билатерий был предопределен, по-видимому, «взрывом» *Hox*-генов (Davidson, 2006; Deutsch, 2010). Появление контроля эмбриогенеза *Hox*-генами рассматривается как ароморфоз (Колчанов, Суслов, 2006).

Гены класса ANTP и, в частности, *Hox*-гены, вероятно, возникли у последнего общего предка Cnidaria и Bilateria (см. Larroux et al., 2008; Erwin, 2009; Корчагина и др., 2010; Srivastava, 2015). Предполагается, что диверсификация генов ANTP класса играла роль в кембрийском взрыве, участвуя в системах паттернирования плана строения тела животных, способных к энергичной направленной локомоции (Holland, 2015). У морской анемоны *Nematostella* (Cnidaria) есть и *Hox*-, и *ParaHox*-гены (Ryan et al., 2007); это означает, что *ProtoHox*-кластер возник, вероятно, до появления общего предка Protostomia и Deuterostomia. В результате тандемных дупликаций из гипотетического *ProtoHox*-кластера еще до

появления билатерального плана строения возникли кластеры *Hox*-, *ParaHox*- и *NK*-генов (Holland, 2015). Кембрийский взрыв может быть объяснен, хотя бы частично, генетической экспансией с вовлечением генных дупликаций, генерировавших *Hox*-, *ParaHox*- и *NK*-гены и кластеры, рекрутированные для формообразования эктодермы, энтодеры и мезодермы, что привело к возникновению трех зародышевых слоев, билатеральной симметрии и сквозного кишечника (Holland, 2015).

П. Холланд (Holland, 2015) отмечает, что сравнительные исследования подтверждают предположение о первичном использовании *NK*-генов для паттернирования мезодермы билатерий, *Hox*-генов – для кодирования морфогенетической разметки вдоль переднезадней оси тела, тогда как *ParaHox*-гены, наиболее вероятно, исходно регулировали формирование рта, средней кишки и ануса вновь возникшего сквозного кишечника. Кластеры *Hox*- и *ParaHox*-генов более тесно связаны друг с другом, чем с *NK*-кластером; эти три генных кластера в различной степени консервативны в разных эволюционных линиях (Ferrier 2010). Для позвоночных характерны очень компактные и консервативные *Hox*- и *ParaHox*-кластеры, но разрушенный *NK*-кластер; у дрозофилы разрушен *Hox*-кластер и потерян один из трех *ParaHox*-генов, но сохранен *NK*-кластер (Holland, 2015).

Предполагается, что образование паралогичных генных кластеров *Hox*-, *ParaHox*- и *NK*-генов послужило генетической основой возникновения и дивергенции билатеральных трехслойных животных; на основе колинеарности и упорядоченной активации генов *Hox*-кластера стало возможным построение тела крупных, сложно организованных животных. (Holland, 1999; Minelli, 2003; Davidson, 2006; Корчагина и др., 2010). У *Trichoplax adhaerens* (Placozoa) обнаружен единственный *Hox/ParaHox*-ген, который рассматривается как прямой потомок *ProtoHox*-гена (Jakob et al., 2004). Предполагалось также, что дупликации *ProtoHox*-гена, ведущего происхождение от анцестрального *NK*-подобного гена, привели к появлению *ProtoHox*-кластера у общего предка Eumetazoa, который дал начало сестринским *Hox*- и *ParaHox*-кластерам (см. Larroux et al., 2008; Thomas-Chollier et al., 2010; Корчагина и др., 2010; Holland, 2015).

Последовательные дупликации, продуцировавшие *Hox*-кластер, произошли относительно рано в эволюции животных. Сходство генного инструментария развития всех билатеральных животных и филогенетическое распределение *Hox*-генов привело к заключению, что последний общий докембрийский предок Bilateria обладал, по крайней мере, восемью генами ANTP-класса, включая *Hox*-, *ParaHox*- и *NK*-гены, или даже их полным современным набором (см. de Rosa et al., 1999; Carroll, 2008; Schierwater, Kamm, 2008). Генный инструментарий развития Bilateria, определяющий сложность морфологии организма, вовлекает также ассоциированные микроRNA, ответственные за подавление трансляции

мРНК *Hox*-генов (см. de Rosa et al. 1999; Erwin, 2009; Copley, 2008; de Robertis, 2008; Levinton, 2008; Srivastava, 2015). Последующие специфичные для каждой ветви дупликации и делеции модифицировали число центральных и постериорных *Hox*-генов; две последовательные дупликации всего кластера привели к возникновению четырех кластеров у позвоночных и еще большего их числа у костистых рыб (см. Ferrier, Minguillón, 2003; Озернюк, Мюге, 2013).

Таким образом, в эволюции происходило постепенное увеличение числа генов ANTP-класса и затем в большинстве линий найдены обширные независимые генные дупликации, сопряженные с прохождением таких важных узловых точек эволюции животных, как возникновение Bilateria и происхождение позвоночных (Ferrier, 2010). Дупликации не были единственным путем изменения композиции и структуры *Hox*-кластера; происходили также обширные эволюционные потери генов с сокращением числа *Hox*-генов (Ferrier, Minguillón, 2003; Ferrier, 2010). Полученные данные свидетельствуют о корреляции числа *Hox*-генов с морфологической сложностью плана строения животных: большое число *Hox*-генов в определенной мере соответствует морфологической сложности (Cameron et al., 2006; Duboule, 2007; Monteiro, Ferrier, 2006; Holland et al., 2008; Putnam et al., 2008; Ferrier, 2010; David, Mooi, 2014; Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015). Таким образом, число *Hox*-генов закономерно изменялось на разных этапах филогенеза животных (Kappen et al., 1989; Holland, 1998, 2001, 2015; de Rosa et al., 1999; Ferrier, Holland, 2001; Naruse et al., 2000; Ferrier, Minguillon, 2003; Ferrier, 2010; Nielsen, 2012). По данным этих и других авторов, число *Hox*- и *ParaHox*-генов, а также генов ANTP-класса, существенно возрастало в ходе эволюции (табл. 3).

Билатеральных животных можно разделить на две группы: Acoelomorpha и Eubilateria (Nielsen, 2012). Представители Acoelomorpha (Acoela, Nemertodermatida и Xenoturbellida) обладают слепо замкнутым кишечником с одним наружным отверстием, выполняющим функции и рта, и ануса, тогда как Eubilateria (Lophotrochozoa, Ecdysozoa и Deuterostomia) имеют сквозной трубковидный кишечник. У Acoela (бескишечных турбеллярий) и других представителей Acoelomorpha *Hox*-кластер короткий, лишенный полного набора генов *Hox3-5*, тогда как *Hox*-кластер геномов Eubilateria может включать 10-15 *Hox*-генов (Nielsen, 2012). Вариации *Hox*-генов по числу, порядку расположения и паттерну экспрессии в развитии отражают эволюционную историю и филогенетическое положение различных таксонов билатеральных животных (Ikuta, Saiga, 2005, 2007).

Характеристики *Hox*-системы и организации *Hox*-кластера (кластеров) специфичны для представителей Protostomia и Deuterostomia, а также входящих в них крупных таксонов. В частности, гены *ftz* (*fushi tarazu*) и *Antp* (*Antennapedia*) найдены только у первичноротых животных, Lophotrochozoa и Ecdysozoa, которые, в свою очередь, различаются ха-

Таблица 3.
Число Hox-, Hox+ParaHox и ANTP-генов у представителей различных таксонов животных

Животные	*Hox*	*Hox+Para-Hox*	Класс ANTP
Porifera (*Amphimedon*)	0	0	8
Placozoa (*Trichoplax*)		1 (+1?)	14
Cnidaria (*Nematostella*)		10	72-78
Nematoda (*Caenorhabditis*)	6		
Annelida (*Alitta*)	11		
Arthropoda: (*Drosophila*),	8		
(*Tribolium*)	14		45
Echinodermata	10-14		
Chordata:			
Branchiostoma	15	18	60
Danio, Oryzias	48		
Xenopus, Gallus	38-39		
Mus, Homo	39	45	100

рактеристиками системы *Hox*-генов как маркерными признаками, сигнализирующими об их положении в филогенетической системе (Nielsen, 2012). Таким образом, три основных ветви билатеральных животных (Lophotrochozoa, Ecdysozoa и Deuterostomia) имеют различный набор *Hox*-генов, и некоторые ортологи специфичны для каждой ветви (Halanych, 2016).

Lophotrochozoa

Эволюционная ветвь Lophotrochozoa весьма обширна и разнообразна по количеству входящих в неё типов беспозвоночных, большинство которых – морские животные с непрямым типом развития. Особенности морфогенеза и плана строения дефинитивных форм у этой ветви беспозвоночных существенно отличаются (Беклемишев, 1964; Иванова-Казас, 1995). Организация *Hox*-генов изучена главным образом у представителей плоских и кольчатых червей, а также моллюсков (Barucca et al., 2016). Экспрессия *Hox*-генов у животных разных таксонов этой ветви характеризуется как поддержанием пространственной и временно́й колинеарности, так и ее нарушениями (Bakalenko et al., 2013; Кулакова и др., 2014; Barucca et al., 2016). Анцестральное число *Hox*-генов Lophotrochozoa составляло 7-11 генов (см. Ferrier, 2010; Bakalenko et al., 2013; Barucca et al., 2016).

Plathelminthes

Среди плоских червей (Plathelminthes) данные о *Hox*-генах получены для планарий *Schmidtea mediterranea* (Currie et al., 2016), а также для

паразитического червя *Schistosoma mansonii* (Pierce et al., 2005). Геном планарии *Schmidtea mediterranea* содержит 13 *Hox*-генов, включающих гомологи всех основных осевых категорий (Currie et al., 2016). *Hox*-гены этого вида планарий не сформированы в виде кластера (Currie et al., 2016). *Schistosoma mansonii* в связи с паразитизмом имеет меньшее, редуцированное число *Hox*-генов (Pierce et al., 2005**;** Currie et al., 2016).

Annelida

Hox-кластер представителя Lophotrochozoa полихеты *Alitta virens* (*Nereis virens*) содержит 11 *Hox*-генов. Предполагается, что данная группа животных сохранила анцестральное число этих генов и исходные принципы их регуляции (de Rosa et al., 1999; Kulakova et al., 2007; Андреева, Кулакова, 2008; Bakalenko et al., 2013; Кулакова и др., 2014). Предложен также альтернативный эволюционный сценарий, предполагающий наличие 9 предковых *Hox*-генов с последующей дупликацией двух из них (Barucca et al., 2016). Среди аннелид 11 *Hox*-генов найдено также у *Capitella teleta, Ctenodrillus serratus* и *Perionyx excavatus* (см. Barucca et al., 2016).

Паттерн экспрессии *Hox*-генов в личиночном развитии нереиды *Alitta virens* подчиняется каноническим правилам временнóй и пространственной колинеарности, хотя некоторые гены нарушают эти правила. Показана взаимосвязь между характером экспрессии *Hox*-генов и особенностями формирования плана строения тела у этого вида полихет (de Rosa et al., 1999; Kulakova et al., 2007; Bakalenko et al., 2013; Кулакова и др., 2014).

Установлено также, что на ранних стадиях регенерации задней части тела *A. virens* градиентная экспрессия *Hox*-генов претерпевает быструю координированную реорганизацию, направленную на компенсацию позиционного нарушения плана строения животного (Новикова, 2014).

Mollusca

У некоторых видов двустворчатых, брюхоногих и головоногих моллюсков обнаружено 11 *Hox*-генов, тогда как у других представителей этих же и других таксонов найдено меньшее число этих генов (Barucca et al., 2016). Морфофункциональная организация различных представителей моллюсков крайне разнообразна, и *Hox*-гены участвуют в регуляции развития вновь появившихся в процессе эволюции структур: раковины, мантии, щупалец (см. Андреева, Кулакова, 2008; Корчагина и др., 2010; Bakalenko et al., 2013; Кулакова и др., 2014; Barucca et al., 2016).

Паттерн экспрессии *Hox*-генов исследован у морского ушка *Haliotis asinine* (см. Bakalenko et al., 2013; Кулакова и др., 2014). Экспрессия «передних» *Hox*-генов у личинок проявляется в парных ганглиях централь-

ной нервной системы; экспрессия этих генов происходит согласно правилу пространственно-временнóй колинеарности. Функционирование *Hox*-генов у *H. asinine* утратило пространственную и временнýю колинеарность, что коррелирует с существенной реорганизацией плана строения их тела.

У представителя головоногих моллюсков каракатицы *Euprymna scolopes* почти все исследованные *Hox*-гены участвуют в спецификации ганглиев нервной системы в соответствии с правилом колинеарности. Эти гены вовлечены также в морфогенез ганглиев, венчика рук и воронки; паттерн экспрессии *Hox*-генов в этих структурах лишён осевой упорядоченности (см. Андреева, Кулакова, 2008; Корчагина и др., 2010; Bakalenko et al., 2013; Кулакова и др., 2014).

Ecdysozoa

Ветвь Ecdysozoa включает Euarthropoda (Insecta, Crustacea, Myriapoda и Chelicerata), а также Onychophora и Tardigrada, и пять типов червеобразных животных, обладающих интровертом (хоботком): Nematoda, Nematomorpha, Priapulida, Kinorhyncha и Loricifera (см. Telford et al., 2008; Nielsen, 2012). К этой ветви билатеральных животных принадлежат такие классические модельные объекты молекулярной биологии и биологии развития, как нематода *Caenorhabditis elegans* и плодовая мушка *Drosophila melanogaster*.

Nematoda

Нематода *Caenorhabditis elegans* имеет значительно редуцированный набор *Hox*-генов: у этого вида найдено всего шесть *Hox*-генов. Предполагается, что анцестральный кластер первичноротых содержал, по крайней мере, 9 членов ортологичных групп *Hox*-генов, т.е. часть этих генов была утрачена в процессе эволюции данного вида нематод (Aboobaker, Blaxter, 2003, 2010). Шесть *Hox*-генов *C. elegans* располагаются тремя парами, не образуя единого непрерывного кластера. Кластер этих генов не только сильно редуцирован и разорван, но и перестроен: два «передних» гена (*ceh-13* и *lin-39*) инвертированы относительно других *Hox*-генов (Aboobaker, Blaxter, 2003, 2010).

У некоторых других нематод экспрессируются дополнительные *Hox*-гены, принадлежащие к группам ортологов, которые отсутствуют у *C. elegans*, но имеются у других билатеральных животных. При экспрессии *Hox*-генов наблюдается некоторая аксиальная упорядоченность, однако, в процессе эмбриогенеза экспрессируются только три гена, тогда как остальные участвуют в спецификации отдельных групп клеток на более поздних стадиях развития (Aboobaker, Blaxter, 2003, 2010). У *C. elegans* были потеряны также четыре гена *ParaHox*-кластера (Ferrier, 2010).

Сравнительный геномный анализ привел к заключению, что редукция числа *Hox*-генов у нематод не была обусловлена одним событием, а происходила в ходе всей эволюции этого типа (Aboobaker, Blaxter 2003, 2010). Вторичные изменения *Hox*-кластера у исследованных видов нематод – результат потери генов и высокой скорости геномной эволюции, причем наиболее измененное состояние *Hox*-кластера найдено именно у модельного объекта *C. elegans* (Aboobaker, Blaxter, 2003, 2010; Putnam et al., 2007; Telford et al. 2008; Tschopp, Duboule, 2011). Обширная редукция числа генов в сочетании с перестройкой их расположения означает потерю важной информации относительно анцестрального состояния нематод или даже всех Ecdysozoa (Aboobaker, Blaxter 2003; Ferrier, Minguillón, 2003).

Insecta (Hexapoda)

На основе оценки числа *Hox*-генов у Onychophora и других представителей Arthropoda, минимум 10 *Hox*-генов должны были присутствовать у общего предка лоботподий и артропод (Carroll, 2008). Общий предок всех артропод имел на два *Hox*-гена больше, чем дрозофила. У *Drosophila melanogaster* кластер, включающий 8 *Hox*-генов, разорван на два участка, комплексы Antp-C и BX-C, и некоторые из *Hox*-генов в этом разорванном кластере утратили гомеозисную функцию – гены *Hox3* и *ftz* у некоторых насекомых были кооптированы для выполнения новых функций (Carroll, 2008). У дрозофилы были потеряны также, по крайней мере, четыре гена *ParaHox*-кластера. У других видов дрозофилид обнаружено также 8 *Hox*-генов, но разрыв кластера произошел иным образом. У жука *Tribolium Hox*-кластер сохранил целостность (Shippy et al., 2008). У всех насекомых в этом кластере потеряны некоторые *Hox*-гены и присутствуют гомеобокс-содержащие гены с другими функциями; у Diptera наблюдается расщепление *Hox*-кластера в разных позициях, инверсии и транспозиции этих генов (см. Ferrier 2010; Ferrier, Minguillón, 2003; Tschopp, Duboule, 2011).

Таким образом, классические, наиболее исследованные модельные объекты генетики и биологии развития, *C. elegans* и *D. melanogaster* обладают вторично измененной организацией системы *Hox*-генов по сравнению с ее состоянием у гипотетического общего предка: представителей Lophotrochozoa и Deuterostomia.

Конечности дрозофилы развиваются из имагинальных дисков, что необычно для членистоногих и представляет собой эволюционное новшество с вставкой в онтогенез образования имагинальных дисков. Развитие ног вовлекает экспрессию генного каскада, определяющего проксимально-дистальную ось конечностей и направляемого *Hox*-геном *Ant* (*Antennapedia*) – селекторным геном, определяющим морфологию конечностей насекомых. Следует отметить, что у хелицеровых в ходиль-

ных ногах и у ракообразных в максиллоподиях *Antp* не экспрессируется (Baguña et al., 2008). Число, расположение и структура конечностей у Onychophora и Arthropoda, как правило, контролируется геном *Ubx* (*Ultrabithorax*).

У некоторых членистоногих сегментация может продолжаться и на личиночных стадиях, что служит примером анаморфного развития (Chipman, 2008). Сегментированная зародышевая полоска – высоко консервативная стадия развития членистоногих и может быть названа филотипической стадией. Этот консерватизм морфологической стадии представлен и на молекулярном уровне у всех исследованных представителей артропод как вовлечение экспрессии генов полярности сегментов: *engrailed*, *hedgehog*, *wingless* и других.

Гомологи (ортологи) всех 8 *Hox*-генов дрозофилы найдены во всех классах членистоногих, включая Myriapoda, а также у сестринского типа Onychophora с гомономными сегментами (Akam, 1998b; Gould, 2002). Многочисленные туловищные сегменты (от 14 до 43) онихофор содержат по паре нерасчлененных конечностей. У членистоногих с их гетерономной сегментацией конечности в некоторых отделах тела отсутствуют. У насекомых всего три пары конечностей, расположенных в грудном отделе; однако, у личинок многих «шестиногих» насекомых, например, у гусениц, есть абдоминальные ноги. У низших бескрылых насекомых присутствуют придатки, рассматриваемые как реликт абдоминальных конечностей. Таким образом, редукция числа ног до трех торакальных сегментов – эволюционная инновация, которая произошла после расхождения насекомых и ракообразных (Андреева, Кулакова, 2008), апоморфная черта насекомых. Насекомых (Hexapoda) на основе молекулярных данных можно считать группой, входящей в состав Crustacea, или Pancrustacea (Nielsen, 2012). В сегментации всех основных групп членистоногих ведущую роль играет ген *engrailed*, что рассматривается как апоморфная черта Arthropoda (Carroll, 2005; Carroll et al., 2005; Nielsen, 2012).

Crustacea

У низших ракообразных, как правило, большое число конечностей расположено и на грудном, и на брюшном отделах тела. Изменения организации сегментов связаны со сдвигом экспрессии *Hox*-генов. У примитивных жаброногих (Branchiopoda) нет максиллоподий, и при развитии всех грудных сегментов сходным образом экспрессируется ген *Ultrabithorax* (*Ubx*) (см. Корчагина и др., 2010). В нескольких ветвях эволюционного древа ракообразных происходила гомеозисная трансформация торакальных ног в максиллоподии (ногочелюсти) – грудные конечности с функцией питания, как, например, у десятиногих раков Decapoda (Deutsch, Mouchel-Vielh, 2003; Baguña et al., 2008). Экспериментальная

эктопическая экспрессия *Ubx* у амфиподы *Parhyale hawaiensis* трансформирует ногочелюсти в ходильные ноги, а вторую пару максилл превращает в ногочелюсти (см. Корчагина и др., 2010).

Все усоногие ракообразные (Cirripedia), имеют поразительный план строения тела: в отличие от большинства ракообразных, тело которых включает три тагмы (голову, торакс и абдомен), у Cirripedia абдоминальный отдел отсутствует (Mouchel-Vielh et al., 1998; Gibert et al., 2000; Brena et al., 2005). У исследованных представителей усоногих найдены гены, гомологичные семи из восьми *Hox*-генов дрозофилы. Ген *Abd-A* (*Abdominal-A*) отсутствует у всех исследованных видов усоногих ракообразных – он либо совсем утрачен, либо его последовательности глубоко изменены. Это первый обнаруженный у Metazoa случай эволюционной корреляции потери одного лишь *Hox*-гена со столь значительным изменением плана строения тела в процессе эволюции (Mouchel-Vielh et al., 1998; Deutsch, Mouchel-Vielh, 2003). У личинки паразитического ракообразного *Sacculina carcini* (Rhizocephala: Cirripedia: Crustacea) выявлено молекулярное свидетельство сохранения остаточной активности генетической программы развития абдомена и реликта рудиментарного абдомена: при исследовании экспрессии гена *engrailed* - маркера сегментации были выявлены пять крошечных полосок локализации продукта этого гена между последним торакальным сегментом и тельсоном (Mouchel-Vielh et al., 1998; Gibert et al., 2000; Deutsch, Mouchel-Vielh, 2003; Brena et al., 2005).

Ген *Abd-B* (*Abdominal-B*) экспрессируется у большинства членистоногих в самых задних сегментах тела. У ракообразных экспрессия этого гена в развитии очень пластична. У *Artemia franciscana* (Branchiopoda) ген *Abd-B* экспрессируется только в генитальном сегменте на границе торакса и абдомена (Brena et al., 2005). У *Sacculina carcini* экспрессия этого гена наблюдается у личинок мужского пола в рудиментарном абдомене, а у личинок-самок – гетеротопическая экспрессия во всем тораксе (Brena et al., 2005). Таким образом, у членистоногих (как и у позвоночных) эволюционировал очень гибкий модулярный план строения с множеством морфологических вариаций, разнообразием плана организации тела и репертуара контролирующих их генетических механизмов, прежде всего, *Hox*-генов как архитекторов строения тела (Valentine, Hamilton, 1997; Baguña et al., 2008).

Deuterostomia

Гены *Hox*-системы и организация их кластеров у вторичноротых животных проявляют ряд характерных признаков, свидетельствующих об их филогенетической принадлежности (Nielsen, 2012). Для хордовых характерен длинный *Hox*-кластер, включающий до 15 *Hox*-генов, тогда как представители Hemichordata и Echinodermata (объединяемые как

Ambulacraria), имеют более короткий *Hox*-кластер, чаще всего состоящий из 10–12 *Hox*-генов (Nielsen, 2012; David, Mooi, 2014).

Echinodermata

У представителей иглокожих различных классов *Hox*-кластер включает от 8 (у голотурий) до 11 (у морских ежей) и 12 (у морских лилий) *Hox*-генов (David, Mooi, 2014). Наиболее необычная черта этого кластера иглокожих – нарушение анцестральной организации, проявляющееся в транслокации «передних» *Hox*-генов (*Hox1*-*Hox3*) на «задний» 5'-конец кластера с дополнительной инверсией ориентации этих генов и тем самым разрушением пространственной колинеарности в их кластере. Предполагаемый эволюционный сценарий такой реорганизации кластера иглокожих – транслокация-инверсия генов *Hox1*-*Hox4* (с последующей потерей гена *Hox4* у морских ежей) во время раннего кембрия или позднего докембрия (David, Mooi, 2014).

Предполагается, что столь радикальная перестройка анцестрального порядка *Hox*-генов с нарушением колинеарности сопряжена с приобретением пятилучевой симметрии (David, Mooi, 2014). Показано, в частности, что гены *distalless*, *engrailed* и *orthodenticle* проявляют уникальный радиальный паттерн экспрессии (см. Minelli, 2003).

Chordata

Среди вторичноротых животных организация *Hox*-кластера и его функции регулятора морфогенетических процессов наиболее детально исследованы у представителей хордовых (Cephalochordata, Urochordata и Vertebrata) (Amores et al., 1998; 2004; Holland, 1998, 1999, 2015; Minelli, 2003; Davidson, 2006; Monteiro, Ferrier, 2006; Duboule, 2007; Pascual-Anaya et al., 2012; David, Mooi, 2014; Stolfi, Brown, 2015).

Cephalochordata (Acrania)

В качестве архетипического хордового рассматривается ланцетник *Branchiostoma,* который имеет один организованный *Hox*-кластер, включающий гены от *Hox1* до *Hox14* и добавочный ген *Hox15*, отсутствующий у других вторичноротых. *Hox*-кластер ланцетника *Branchiostoma floridae* рассматривается как наименее измененный и самый близкий к анцестральному среди хордовых (Monteiro, Ferrier, 2006). Предполагается, что общий предок хордовых (возможно, и всех вторичноротых), имел один кластер с линейно расположенными генами почти всех паралогичных групп, которые проявляли пространственную и временну́ю колинеарность (Ikuta, Saiga, 2005, 2007). В целом экспрессия *Hox*-генов ланцетника проявляет пространственную и временну́ю колинеарность, хотя отдельные гены (*Hox6* и *Hox14*), по-видимому, ее утратили (Pascual-

Anaya et al., 2012; David, Mooi, 2014). Следует отметить, что геном ланцетника, помимо *Hox*-генов, включает более 100 гомеобокс-содержащих генов (Ferrier, 2010).

Urochordata

Оболочники (Tunicata, или Urochordata), как и Cephalochordata – беспозвоночные хордовые, представляющие сестринские группы позвоночных в пределах типа Chordata. Молекулярно-филогенетический анализ предполагает более тесные отношения между урохордовыми и позвоночными, чем между последними и цефалохордовыми (Monteiro, Ferrier, 2006; Ferrier, 2010; Stolfi, Brown, 2015). Среди хордовых радикальные изменения *Hox*-системы с утратой в той или иной мере ее анцестральной организации и дезинтеграцией кластера *Hox*-генов найдены только у изученных представителей оболочников (Minelli, 2003; Корчагина и др., 2010; David, Mooi, 2014; Stolfi, Brown, 2015).

Согласно классификации строения *Hox*–кластеров (Duboule, 2007), они могут быть организованными, дезорганизованными, расщепленными и атомизированными. Показано, что наиболее дезинтегрированным, дезорганизованным и атомизированным *Hox*-кластером обладает аппендикулярия *Oikopleura dioica*: у данного вида единый *Hox*-кластер отсутствует, и девять *Hox*-генов рассеяны по всему геному (Seo et al., 2004). У этого вида аппендикулярий утрачены четыре гена: *Hox2*, *Hox3*, *Hox5*, и *Hox6*, и сохранившиеся *Hox*-гены диспергированы в геноме в большей мере, чем у любого другого исследованного до сих пор животного (Seo et al., 2004; Ikuta, Saiga, 2005, 2007; Monteiro, Ferrier, 2006; Duboule, 2007; Tschopp, Duboule, 2011; David, Mooi, 2014).

У другого представителя оболочников, асцидии *Ciona intestinalis* кластер расщеплен, неполон и частично дезорганизован, хотя генная экспрессия сохраняет остатки колинеарности (Ikuta et al., 2004; Caputi et al., 2008; Ikuta, 2011). *O. dioica* и *C. intestinalis* обладают одним и тем же числом *Hox*-генов, но различным их набором. Асцидии потеряли гены *Hox7*, *Hox8*, *Hox9* и *Hox11* (Seo et al., 2004; Ferrier, 2010). Помимо обширной потери *Hox*-генов и расщепления *Hox*-кластера, у *C. intestinalis* нарушена последовательность расположения *Hox*-генов и колинеарность их экспрессии (Ferrier, 2010; David, Mooi, 2014). Как справедливо заметил Ферье (Ferrier, 2010), строго говоря, нельзя судить о колинеарности в случаях потери целостности *Hox*-кластера и упорядоченного расположения *Hox*-генов вдоль хромосомы.

Таким образом, у изученных оболочников обнаружена потеря организованного *Hox*-кластера, утрата части *Hox*-генов, а также потеря *ParaHox*-генов; тотальная потеря кластеризации *Hox*-генов у *O. dioica* уникальна для Metazoa, частичная потеря кластеризации уникальна для хордовых (Ferrier, Holland, 2001; Ikuta, Saiga, 2005; Monteiro, Ferrier, 2006;

Ferrier, 2010; Tschopp, Duboule, 2011; David, Mooi, 2014). Нарушенная организация *Hox*-кластера и потеря нескольких *Hox*-генов отражается в модифицированной морфологии взрослых оболочников (David, Mooi, 2014).

Vertebrata

В то время как в геномах подавляющего большинства Eumetazoa – всех представителей беспозвоночных животных, в том числе и беспозвоночных хордовых – содержится один *Hox*-кластер, в эволюционной ветви позвоночных происходили дупликации всего генома, включающие и *Hox*-кластер. Предполагается, что предок хордовых имел 14 генов *Hox*-кластера (см. Ferrier, 2010). Эволюция позвоночных была связана с широкомасштабной экспансией новых генов в результате двух раундов полной дупликации геномов (2R-гипотеза) (Holland et al., 1994; Sidow, 1996). В результате последовательных раундов дупликации генома в ходе эволюции позвоночных произошло увеличение числа *Hox*-кластеров до четырех у тетраподных позвоночных. У рыб произошел дополнительный раунд полной дупликации генома, что привело к большему числу *Hox*-кластеров у костистых рыб (Holland, 1999; Josefowicz et al., 2003; Minelli, 2003; Taylor et al., 2003; Hoegg et al., 2004; Davidson, 2006; Озернюк, Мюге, 2013; David, Mooi, 2014). Отдельные *Hox*-гены различных кластеров после полной дупликациями геномов были утрачены.

Первая дупликация *Hox*-кластера (сходного с кластером ланцетника) произошла, вероятно, у общего предка бесчелюстных и челюстноротых. Предки современных миксин и челюстноротых сохранили бульшую часть ортологов исходного кластера, а миноги потеряли часть генов (Papageorgiou, 2007). У бесчелюстных найдено, по крайней мере, три *Hox*-кластера, не ортологичных кластерам млекопитающих и возникших путем независимой дупликации (Ikuta, Saiga, 2005, 2007; Kappen, 2011). У челюстноротых произошла еще одна дупликация генома; четыре кластера *Hox*-генов были унаследованы Tetrapoda.

В линии челюстноротых продолжились дупликации *Hox*-кластеров, в результате которых у костистых рыб обнаруживается от 8 до 14 кластеров (Amores et al., 1998; 2004; Josefowicz et al., 2003; Hoegg et al., 2004; Monteiro, Ferrier, 2006; Papageorgiou, 2007). У *Danio rerio* (Cypriniformes) *Hox*-гены представлены семью кластерами, содержащими 48 генов. Сходная структура кластеров этих генов была выявлена и у другого представителя того же отряда, медаки *Oryzias latipes*. Из анализа организации *Hox*-кластеров в геноме этих рыб следует, что они возникли в результате дупликации четырех кластеров предковых форм (после отделения Acipenseriformes и Semionotiformes), и эта дупликация послужила основой для всплеска разнообразия в возникшем таксоне костистых рыб (см. Josefowicz et al., 2003; Taylor et al., 2003; Hoegg et al., 2004; Озернюк, Мюге, 2013). У представи-

теля костистых рыб *Takifugu rubripes* (Tetrodontiformes) также прослеживается дупликация четырех анцестральных кластеров, но из 8 теоретически возможных кластеров сохранились лишь четыре. В геноме цихлид (отряд Perciformes) после дупликации *Hox*-кластеров произошла потеря двух их них, и остались шесть кластеров. В эволюции костистых рыб были утрачены также отдельные *Hox*-гены в различных кластерах (Pascual-Anaya et al., 2012). Среди представителей более древней группы хрящевых рыб у химерообразной рыбы *Callorhinchus millii* обнаружено четыре *Hox*-кластера, три у ската *Leucoraja erinacea* и акулы *Scyliorhinus canicula*, а также два кластера у акулы *Heterodontus francisci* (Kim et al., 2000; Josefowicz et al., 2003; King et al., 2011).

В ходе диверсификации позвоночных многие *Ho*x-гены были потеряны в разных линиях, в результате чего ни один кластер позвоночных не обладает паралогами всех групп этих генов, т.е. каждый *Hox*-кластер неполный (Monteiro, Ferrier 2006). Отдельные *Ho*x-гены и целые кластеры были потеряны в эволюционных ветвях челюстноротых, и для различных позвоночных животных характерно большое разнообразие числа кластеров *Hox*-генов и их структуры.

Дупликации целых кластеров *Hox*-генов коррелируют с крупными эволюционными преобразованиями и формированием новых таксонов. Таким образом, происхождение и эволюция позвоночных связаны с широкомасштабной экспансией новых генов в результате полной дупликаций геномов (Amores et al., 1998; Gould, 2002; Josefowicz et al., 2003; Minelli, 2003; Davidson, 2006; Pascual-Anaya et al., 2012; Озернюк, Мюге, 2013) (рис. 16).

Каждый из четырех *Hox*-кластеров млекопитающих, возникших путем дупликации из единого анцестрального кластера, содержит 8–10 генов из 13 групп паралогов, в целом 39 генов (Krumlauf, 1994; Ikuta, Saiga 2005; Kappen, 2011). После геномных дупликаций в ранней эволюции позвоночных не происходило новых масштабных экспансий *Hox*-генов; не исключена селекция, направленная против дальнейшей экспансии *Hox*-генов, поскольку избыточная доза транскрипционных факторов может быть повреждающей для функционирования генома (Carroll, 2008). Млекопитающие на протяжении эволюционного пути от общего с другими челюстноротыми предка потеряли в общей сложности не больше семи генов. Новые дупликации *Hox*-генов в линии млекопитающих неизвестны: мышь и человек имеют один и тот же набор из 39 *Hox*-генов (Carroll, 2008). Таким образом, в геноме млекопитающих выявлено 39 *Hox*-генов, собранных в четыре кластера (рис. 17).

Перестройки генных регуляторных каскадов с участием *Hox*-генов играли важную роль в эволюции осевой организации и строения конечностей Metazoa. Для эволюции позвоночных характерно умножение числа постериорных генов *Hox9-Hox14*, предковый ген которых претерпел

Рис. 16. Организация кластеров *Hox*-генов у хордовых: ланцетника *Branchiostoma floridae* и *Branchiostoma lanceolatum*, асцидии *Ciona intestinalis*, аппендикулярии *Oikopleura dioica*, мыши *Mus musculus* и рыбы *Danio rerio* (по Pascual-Anaya et al., 2012, с изменениями).

тандемные дупликации уже после отделения от общего с первичноротыми предка (см. Lanfear, 2010; Корчагина и др., 2010). Хотя точное число дупликаций трудно оценить, ясно, что у вторичноротых произошло значительно больше дупликаций постериорных *Hox*-генов, чем у пер-

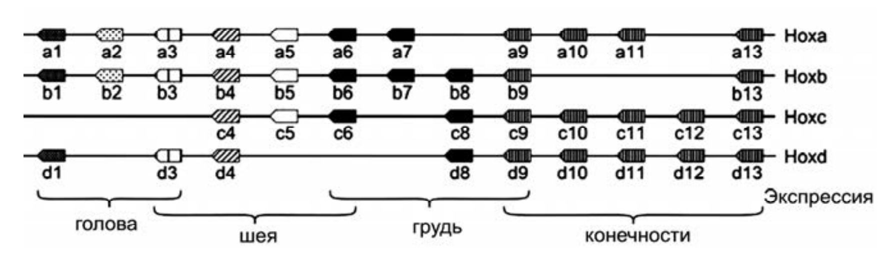


Рис. 17. Кластеры *Hox*-генов в геноме млекопитающих с указанием контролируемых ими регионов (по Kappen, 2011, с изменениями).

вичноротых (Lanfear, 2010). Постериорные *Hox*-гены представляют особый интерес, поскольку они, по-видимому, связаны с эволюцией ряда морфологических новшеств и, вероятно, эволюционировали у вторичноротых быстрее по сравнению с другими *Hox*-генами (Lanfear, 2010). Переднезадняя ось позвоночных подразделяется на морфологически четко дифференцируемые регионы; конечности могут рассматриваться как дупликаты основной оси тела (Minelli, 2003).

Исследование эволюционного перехода от плавников рыб к конечностям тетрапод в течение девонского периода дает возможность понять роль преобразований экспрессии *Hox*-генов в этом процессе (Hall, 2002; Ahlberg, 2003; Воробьева, 2010а, б). Предполагается, что первые четвероногие – амфибии-лабиринтодонты, произошли от предковых форм путем изменения экспрессии *Hox*-генов при развитии плавников. Раннее развитие конечностей сходно у костных рыб и тетрапод и контролируется экспрессией *Hoxd-11* и *Hoxd-13*; образование пальцев у наземных позвоночных связано с пролиферацией дистальной мезенхимы и более поздней, уникальной для Tetrapoda экспрессией *HoxD*-генов в дистальной части почки конечности (см. Ahlberg, 2003; Гилберт, 2010). Пять из тринадцати *HoxD*-генов (*9–13 HoxD*) были кооптированы для контроля развития конечностей. Эта фаза экспрессии, вероятно, возникла в эволюции анцестральной группы тетрапод, помещаемой между Panderichthys и Acanthostega + Ichthyostega (Ahlberg, 2008), и привела к появлению пальцев как совершенно новой структуры (Bergström, 2003). Гены *HoxD* контролируют двухфазный паттерн роста у тетрапод (при однофазном у рыб), что привело к формированию пальцев путем повторения процесса образования костей конечностей. Хотя переход от плавников к конечностям – классический пример постепенной эволюции, у амфибий появились пальцы, отсутствующие у рыб (Bergström, 2003); пальцы и запястье – новообразования тетрапод (Воробьева, 2010а, б).

Участие постериорных генов *Hox*-кластера хордовых в приобретении таких эволюционных новшеств, как формирование постанального хвоста, конечностей и пальцев позвоночных, возможно, связано с ускоренной эволюцией этой группы *Hox*-генов (Lanfear, 2010). Произошел крупный морфологический переход к новой морфофункциональной организации животных, радикально отличающихся от предков морфологией и образом жизни, что привело к вспышке эволюционной радиации, давшей более 24000 живущих ныне видов амфибий, рептилий, птиц и млекопитающих и продолжающейся в наше время (Ahlberg, 2003). В регуляции формообразования зачатка конечности млекопитающих участвуют пять *Hox*-генов, причем самый «задний» ген экспрессируется в дистальной части заднего края конечности. Данные, полученные на мышах, выявили контроль развития отделов конечностей также генами групп *HoxA* и *HoxD* (рис. 18).

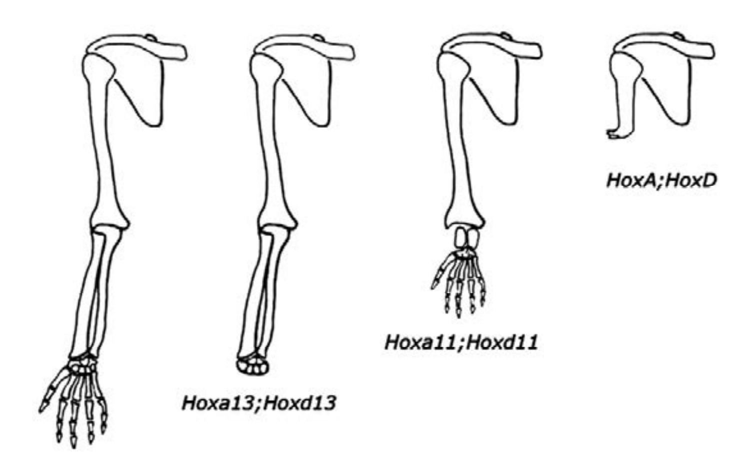


Рис. 18. Строение передних конечностей мутантных мышей при отсутствии указанных *Hox*-генов нормального набора (норма – слева) (по Zakany, Duboule, 2007, с изменениями).

Перестройки генных регуляторных каскадов, включающих *Hox*-гены, играли важную роль и в эволюции осевой организации позвоночных. Экспрессия *Hox*-генов и сомитогенез – первичные факторы формирования оси тела позвоночных. Периодичность формирования сомитов определяется молекулярным осциллятором, «часами сегментации», скорость хода которых различна в разных линиях позвоночных (Müller et al., 2010). Например, у змей с большим числом относительно небольших сомитов она выше, чем у мыши, поэтому по числу позвонков можно судить о скорости сегментации и паттерне сомитогенеза. У млекопитающих число прекаудальных позвонков очень консервативно; паттерн позвоночника и ребер млекопитающих определяется *Hox*-генами (Müller et al., 2010; Varela-Lasheras et al., 2011). При экспериментальном выключении экспрессии всех трех копий гена *Hox-10* у мыши развиваются ребра позвонков в поясничном отделе (Luo et al., 2007) (рис. 19).

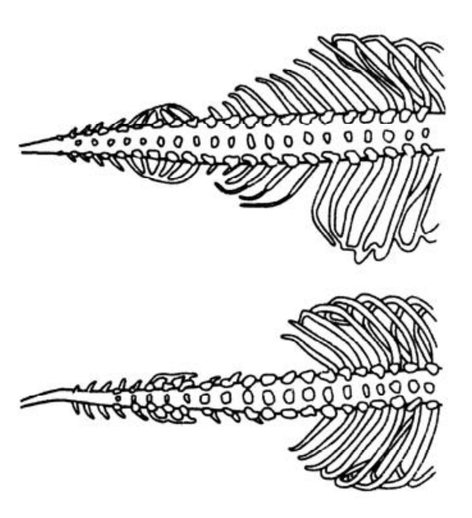


Рис. 19. Появление ребер позвонков поясничного отдела мыши в эксперименте; внизу – позвоночник нормальной мыши (Luo et al., 2007).

По сравнению с беспозвоночными *Hox*-кластеры позвоночных очень компактны и не содержат посторонних генных последовательностей, а также транспозонов (Duboule, 2007; Tschopp, Duboule, 2011). Общая схема контроля *Hox*-генами осевого паттерна и конечностей позвоночных константна, и ее второстепенные вариации определяют пространственную протяженность (например, число позвонков) и точный набор экспрессирующихся паралогичных генов (David, Mooi, 2014).

Пространственная колинеарность экспрессии *Hox*-генов вдоль переднезадней оси определяется у позвоночных через временнýю колинеарность. Механизмы, управляющие последовательным «включением» *Hox*-генов в кластерах позвоночных, изучены недостаточно. Существуют энхансеры, которые координируют работу *Hox*-кластера позвоночных как единого комплекса (Tarchini, Duboule, 2006; Spitz, 2010). Вероятно, контроль над экспрессией *Hox*-генов в эмбриогенезе позвоночных не ограничивается каким-либо одним механизмом, включая и реорганизацию хроматина, и работу удалённых геноспецифичных промоторов; эта регуляторная пластичность могла быть унаследована от общего предка билатеральных животных Urbilateria (Spitz, 2010).

Модификации и нарушения целостности *Hox*-кластера: транслокации, инверсии и потери *Hox*-генов

Макроэволюционные приобретения и потери Bilateria в значительной мере обусловлены контролем их пространственно-временнóй организации генами *Hox*-кластеров. Гены *Hox*-кластера выполняют фундаментальную функцию кодирования позиционной информации вдоль переднезадней оси Bilateria и создания векторного градиента этой информации в индивидуальном развитии (Akam, 1998a, b; Корчагина и др., 2010; Бакаленко и др., 2012). Генетические механизмы, детерминирующие переднезадний план строения тела и весь комплекс основных черт билатеральных животных, связаны с порядком пространственного расположения *Hox*-генов в кластере (Duboule, 2007; Putnam et al., 2008; Ferrier, 2010; Spitz, 2010; Nielsen, 2012; David, Mooi, 2014; Holland, 2015).

Функция регионализации, контроля *Hox*-генами осевого паттерна вдоль переднезадней оси показана для представителей всех трёх эволюционных ветвей билатеральных животных. Предполагается, что *Hox*-код, колинеарность и консервативность *Hox*-системы в детерминации переднезадней полярности и сегментации – анцестральная плезиоморфная характеристика всех билатеральных животных, присущая Urbilateria (Minelli, 2003; Davidson, 2006; Schierwater, Kamm, 2008; Кулакова и др., 2014). У многих представителей билатеральных животных найдены упорядоченные кластеры с полным или близким к таковому набором *Hox*-генов и проявлением колинеарности.

Однако колинеарность отнюдь не повсеместна: у ряда представителей Ecdysozoa, а также оболочников и иглокожих среди Deuterostomia в той или иной мере утрачена анцестральная организации кластера *Hox*-генов и их функций (Akam, 1998; Minelli, 2003; Manuel, 2009; Корчагина и др., 2010; Кулакова и др., 2014). Исследование организации *Hox*-кластеров, набора *Hox*-генов, их расположения в кластере позволяет связать структурно-функциональные особенности *Hox*-системы с морфологией фенотипа и макроэволюционными изменениями плана строения животных. Геномные корреляты морфологического разнообразия животных (Srivastava, 2015) включают не только возрастание морфологической сложности организма в каузальной зависимости от экспансии числа *Hox*-генов и их кластеров, но и ключевую роль колинеарности и топологической организации *Hox*-кластера, а также вторичной потери части этих генов в детерминации развития и фенотипической морфологии животного.

Изучение *Hox*-генов различных представителей многоклеточных животных выявило множество нарушений их анцестрального расположения в хромосомах и утрату части *Hox*-генов, например, у круглых червей и оболочников. Сопоставление организации *Hox*-кластеров и паттерна экспрессии *Ho*x-генов (*Hox*-кода) с фенотипической морфологией развивающегося организма дает возможность проследить возникновение макроэволюционных изменений морфогенеза и плана строения, а также различные эволюционные сценарии (David, Mooi, 2014).

Топологические преобразования *Hox*-кластеров включают: дупликации и потери отдельных генов, дупликации кластеров, разрезание кластера на фрагменты с потерей его целостности, перестройки анцестральной последовательности *Hox*-генов в пределах кластера путем их транслокаций и инверсий. Дупликации этих генов и кластеров рассмотрены ранее; ниже приведены сведения о перестройках их локализации в кластерах, нарушениях целостности кластера и потерях *Hox*-генов.

Сопряженность целостности *Hox*-кластера и временнóй колинеарности

Животные с естественными разрывами в кластере (*Drosophila*, *Ciona*, *Capitella*), и даже с полностью дезинтегрированым кластером (*Oikopleura*), демонстрируют упорядоченную транскрипцию *Hox*-генов вдоль переднезадней оси (Ikuta et al., 2004; Wada et al., 2003; Edvardsen et al., 2005; Seo et al., 2004; Fröbius et al., 2008; Ikuta et al., 2011). Таким образом, пространственная колинеарность экспрессии *Hox*-генов не зависит от упорядоченного расположения генов в *Hox*-кластере и его целостности. Временнáя колинеарность, когда «передний» ген (3'-ассоциированный) активируется раньше 5'-ассоциированного соседа, отсутствует у большинства исследованных животных с фрагментированным или ра-

зорванным кластером (Ikuta et al., 2004, 2007; Seo et al., 2004; Корчагина и др., 2010).

Сопоставление данных об организации *Hox*- и *ParaHox*-кластеров с проявлением временнóй колинеарности привело к гипотезе о корреляции целостности кластеров и временнóй колинеарности со скоростью эмбриогенеза (Duboule, 1994; Ferrier, Holland, 2002; Monteiro, Ferrier 2006; Tschopp, Duboule, 2011). Д. Дюбюль (Duboule, 1994) впервые предположил, что временнáя колинеарность может осуществляться только в клетках с высокой скоростью митотической репродукции, связав контроль темпов эмбриогенеза с целостностью и упорядоченностью *Hox*-кластера. У видов с дезинтегрированным (аппендикулярия *Oikopleura dioica* и плоский червь *Schistosoma mansoni)* или расщепленным *Hox*- кластером (асцидия *Ciona*, *Drosophila*, *C. elegans*) временнáя колинеарность не проявляется и эмбриональное развитие протекает быстро. Предполагается, что быстрый эмбриогенез – производное, вторичное явление, не дающее возможности для постепенного развертывания временнóй последовательности экспрессии *Hox*-генов, тогда как пространственная колинеарность еще сохраняется (Ferrier, Holland, 2002; Aboobaker, Blaxter, 2003, 2010; Seo et al., 2004; Ikuta, Saiga, 2005; Tschopp, Duboule, 2011).

Для временнóй координации экспрессии *Hox*-генов, возможной у животных с медленным эмбриогенезом и более длительным периодом последовательного развертывания экспрессии *Hox*-генов, вероятно, необходим целостный интегрированный кластер. Таким образом, механизм временнóй колинеарности служит, вероятно, основным ограничителем, поддерживающим целостность *Hox*-кластера. Потеря этого ограничителя ведет к нарушению целостности кластера: когда временнáя колинеарность в развитии больше не требуется, кластер может распадаться. Постулирована связь между поддержанием целостности *Hox*-кластера и временнóй колинеарностью, т.е. корреляция между скоростью эмбриогенеза (как возможностью проявления временнóй колинеарности) и целостностью кластера (Duboule, 1994; Ferrier, Holland 2002; Monteiro, Ferrier, 2006; Tschopp, Duboule, 2011).

У животных с расщепленным или дезинтегрированным кластером эволюционировал вторичный способ быстрого эмбриогенеза с малым числом клеток и детерминированным, мозаичным развитием (Ferrier, Holland, 2002; Ferrier, Minguillón, 2003; Seo et al., 2004; Ikuta, Saiga, 2005, 2007; Erwin 2006; Monteiro, Ferrier, 2006; Tschopp, Duboule, 2011). Более медленный эмбриогенез и более длительный период инициации экспрессии *Hox*-генов коррелирует с интактностью целостного кластера этих генов.

Транслокации и инверсии *Hox*-генов в пределах кластера

Перестройки анцестральной последовательности *Hox*-генов с их переносом в пределах кластера, а также инверсией (сменой ориентации

гена в *Hox*-кластере) найдены у некоторых представителей Ecdysozoa и Deuterostomia. В частности, как уже отмечалось, у *Caenorhabditis elegans* инвертирована позиция двух «передних» *Hox*-генов (Aboobaker, Blaxter, 2003, 2010).

Среди Deuterostomia дезорганизация анцестрального *Hox*-кластера у представителей типа Echinodermata, включающая транслокацию и инверсию трех «передних» генов кластера и связанная с нарушением колинеарности экспрессии кластерных *Hox*-генов, была сопряжена с эволюционным переходом от билатеральной к пентарадиальной симметрии (David, Mooi, 2014). Сдвиг времени активации «передних» *Hox*-генов (после начала экспрессии «задних») изменил, вероятно, фенотипический баланс морфогенеза частей тела и вызвал переход к доминированию пентарадиальной симметрии (David, Mooi, 2014). В частности, у морских ежей взрослый организм формируется из зачатка на левой стороне личинки; морфологическая инверсия оральной части развивающегося животного коррелирует с изменением пространственной и временнóй колинеарности «передних» *Hox*-генов (Cameron et al., 2006; Рожнов, 2013; David, Mooi, 2014). Таким образом, радикальная перестройка плана строения иглокожих относительно других билатерий связана с реорганизацией *Hox*-кластера.

Нарушения целостности *Hox*-кластера

Среди представителей Lophotrochozoa кластерная организация *Hox*-генов изучена у полихеты *Capitella teleta* (Fröbius, Seaver, 2006; Fröbius et al., 2008). Показано, что 8 из 11 *Hox*-генов *Capitella* обнаруживаются в одном фрагменте, два гена – во втором, и еще один, не сцепленный с остальными *Hox*-генами, располагается отдельно. Как и у позвоночных, все гены *Hox*-кластера *Capitella* транскрибируются в одном направлении, кластер не содержит «посторонних» генов (Fröbius et al., 2008).

У изученных представителей Ecdysozoa в той или иной мере утрачена анцестральная организация кластера *Hox*-генов и их функций, что особенно выражено у нематод; *C. elegans* и дрозофилиды не сохранили исходного порядка расположения генных последовательностей в хромосомах. Кластеры *Hox*-генов *Drosophila* расщеплены на два, у *C. elegans* – на три субкластера на одной и той же хромосоме; расщепление этого кластера у *C. elegans* и дрозофилид – эволюционно независимые события (Aboobaker, Blaxter, 2003, 2010; Minelli, 2003, 2015b; Кулакова и др., 2014; Sommer, 2015). В ходе эволюции *Hox*-кластер нематод оказался значительно измененным, причем наиболее измененное, производное состояние найдено у *C. elegans* (Aboobaker, Blaxter 2003, 2010).

Среди хордовых радикальные изменения системы *Hox*-генов с утратой в той или иной мере анцестральной организации кластера этих генов и их функций найдены у представителей оболочников; наиболее

диспергированы *Hox*-гены и полностью утрачена целостность этого кластера у аппендикулярии *Oikopleura*. Потеря *Hox*-кластеризации – частичная у *Ciona* и тотальная у *Oikopleura* – уникальна среди хордовых и всех Deuterostomia (Minelli, 2003; Корчагина и др., 2010; David, Mooi, 2014; Stolfi, Brown, 2015).

Потери *Hox*-генов

Среди представителей Lopotrochozoa наиболее существенная редукция анцестрального числа *Hox*-генов найдена у плоского червя (Plathelminthes) *Schistosoma mansonii* (Pierce et al., 2005). Эта редукция связана, вероятно, с переходом к паразитическому образу жизни.

Изученные представители Ecdysozoa (включая такие модельные объекты исследований, как *Caenorhabditis elegans* и *Drosophila melanogaster*) потеряли ряд предковых генов по сравнению с книдариями (Technau et al., 2015), Lophotrochozoa (Ferrier, 2010; Bakalenko et al., 2013), Deuterostomia (Putnam et al., 2007) и анцестральными первичноротыми, *Hox*-кластер которых включал по крайней мере 9 групп ортологов (Aboobaker, Blaxter 2003, 2010). Потеря многих анцестральных генов в эволюции Ecdysozoa, особенно выраженная у нематод (Aboobaker, Blaxter, 2003, 2010; Minelli, 2003, 2015b; Telford et al., 2008; Кулакова и др., 2014; Sommer, 2015), коррелировала с существенными макроморфологическими преобразованиями фенотипа. Потеря экспрессии одного из *Hox*-генов (*Abd-A*), приводящая к утрате всего абдоминального отдела тела у паразитической *Sacculina carcini*, представителя Ecdysozoa, демонстрирует связь экспрессии *Hox*-генов с глобальной архитектурой тела (Deutsch, Mouchel-Vielh, 2003; Géant et al., 2006). Таким образом, выпадение экспрессии одного или немногих *Hox*-генов может вызвать крупномасштабные изменения плана строения тела животного.

У большинства – но не всех представителей Deuterostomia найдены упорядоченные кластеры с полным набором *Hox*-генов (Tschopp, Duboule 2011). В эволюционной линии хордовых-позвоночных выявлена удивительная консервативность генома с наследованием большинства предковых генов, сохранением целостности *Hox*-кластеров и консерватизма их функций (Duboule, 2007; Putnam et al., 2008; David, Mooi, 2014). Эволюционный успех позвоночных в существенной мере был обеспечен последовательными дупликациями комплекса *Hox*-генов и надстройкой каскадов генных регуляторных сетей, что дало возможность вовлечения этих генов в выполнение новых функций, связанных с крупными инновациями строения тела позвоночных (см. выше; Putnam et al., 2008; Tschopp, Duboule, 2011).

Исключительное положение среди хордовых занимают оболочники Urochordata, у изученных представителей которых, аррендикулярии *Oikopleura* и асцидии *Ciona* обнаружена потеря ряда *Hox*-генов, корре-

лирующая с существенным преобразованием анцестральной фенотипической морфологии (Ferrier, Holland, 2002; Ikuta, Saiga, 2005, 2007; Monteiro, Ferrier, 2006; Tschopp, Duboule, 2011; David, Mooi, 2014).

Гены, определяющие временну́ю организацию процессов развития

«Стрела времени» развития организма контролируется различными механизмами (Smith, 2003). Эти механизмы включают генетический контроль временно́й последовательности сегментации сомитов (Smith, 2003; Oates et al., 2012), экспрессию генов гетерохроний (Slack, Ruvkun, 1998; Kato, Slack, 2008), микроРНК, регулирующие продолжительность и чередование фаз онтогенеза (Slack, Ruvkun, 1998; He, Hannon, 2004; Sperling, Peterson, 2009; Hertel, Stadler, 2015).

У позвоночных серийно повторяющиеся сомиты последовательно отпочковываются от недифференцированной пресомитной мезодермы, и временно́й порядок их формирования определяется «молекулярными часами», гетерохронии которых способны изменить число сомитов и их производных (Smith, 2003; Oates et al., 2012). Молекулярной основой временно́й последовательности сегментации сомитов, «сомитных часов» позвоночных, служит многократно повторяемый цикл экспрессии гена гомеобокса *Hes7*, кодирующего транскрипционный репрессор, который функционирует как эффектор сигнальной системы Notch (Smith, 2003; Oates et al., 2012).

Исследования, проведенные на нематоде *Caenorhabditis elegans*, привели к открытию эволюционно консервативных генов гетерохроний, которые контролируют временно́й паттерн развития; потеря функции этих генов вызывает преждевременную или, наоборот, замедленную реализацию программы развития (Slack, Ruvkun, 1998; Kato, Slack, 2008). Гены гетерохроний, рассматриваются как временно́й аналог *Hox*-генов и других гомеозисных генов, определяющих пространственную организацию многоклеточных животных (Slack, Ruvkun, 1998). Гены гетерохроний у *C. elegans* регулируют переход от одной стадии развития к другой. Например, гены *lin-14* (*linage-14*) и *lin-28* (*linage-28*) кодируют соответственно белки LIN-14 и LIN-28 – ключевые факторы контроля судьбы клеточных линий ранних личинок. Эти белки функционируют соответственно на первой и второй личиночных стадиях, определяя судьбу клеточных линий и предотвращая преждевременную активацию LIN-29, транскрипционного фактора, который необходим для перехода во взрослое состояние (Slack, Ruvkun, 1998; Kato, Slack, 2008). Слишком ранняя активация LIN-29 приводит к преждевременному формированию признаков взрослого организма.

Некоторые гены гетерохроний, такие как *lin-4* и *let-7* у *C. elegans*, кодируют микроРНК, регулирующие длительность и чередование фаз онтоге-

неза. Ген *lin-4* контролирует переход от первой личиночной стадии ко второй, ген *let-7* – переход от последней, четвертой личиночной стадии к взрослому организму (см. Slack, Ruvkun, 1998; Kato, Slack, 2008; Sperling, Peterson, 2009). Мутации *lin-4* не только нарушают расписание событий личиночного развития, но и влияют на продолжительность жизни червя: уменьшение активности *lin-4* укорачивает продолжительность жизни, тогда как сверхэкспрессия *lin-4* ее увеличивает; это первый пример участия микроРНК в контроле скорости старения (Kato, Slack 2008).

Анализируя роль генов, определяющих временнýю организацию развития, необходимо отметить особенности этого вида регуляции для стволовых клеток половой линии. Ключевое регуляторное событие в судьбе этих клеток – сайленсинг, подавление транскрипции и трансляции как защита от соматической дифференциации и преждевременного гаметогенеза (Ewen-Camden et al., 2010). Специфичные для гаметогенных стволовых клеток эволюционно консервативные молекулярные механизмы, обеспечивающие их «стволовость», включают экспрессию генов, родственных *vasa, piwi, nanos, tudor, pumilio* и некоторых других (Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013). Белки семейства Piwi/Argonaute вовлечены в спецификацию и поддержание гаметогенных стволовых клеток, а также сайленсинг транспозонов и мРНК путем взаимодействия со специфической микроРНК (piPNA, piwi-interacting RNA) (Grimson et al., 2008).

Роль микроРНК

Некодирующие РНК (нкРНК) представляют большую группу регуляторных молекул, управляющих множеством процессов у эукариотических организмов. Малые некодирующие РНК, микроРНК (miRNA) содержат 22 нуклеотида и модулируют генную экспрессию на посттранскрипционном уровне путем связывания с сайтами нетранслируемых регионов мРНК-мишеней (He, Hannon, 2004; Filipowicz et al., 2007; Sperling, Peterson, 2009; Christodoulou, 2010; Li et al., 2012; Бакаленко, 2014; Hertel, Stadler, 2015). Некоторые микроРНК эволюционно консервативны в царствах растений и животных (Amrose, Chen 2007; Funayama et al., 2010). Некодирующие РНК могут считываться с межгенных последовательностей и интронов, а также с противоположной нити ДНК, оказываясь антисмысловыми (Бакаленко, 2014).

Показано, что более 200 некодирующих транскриптов разного размера считываются с последовательностей четырёх *Hox*-кластеров генома человека (Rinn et al, 2007; Sperling, Peterson, 2009). Значительная часть транскриптов многоклеточных животных претерпевает процессинг с образованием некодирующих РНК, в состав которых входят микроРНК; первичные транскрипты микроРНК обычно образуют более одного функционального продукта (Beniaminov et al., 2008; Marco et al, 2013).

Сотни микроРНК вовлечены в сложную регуляторную сеть, контролирующую развитие организма многоклеточных животных: дифференцировку в период эмбриогенеза, нейральную дифференцировку, спецификацию других тканей, включая опосредованные *Hox*-генами события, судьбу плюрипотентных стволовых клеток, гематопоэз (Pasquinelli et al., 2005; Makeyev, Maniatis, 2008; Sperling, Peterson, 2009; Christodoulou, 2010; Hertel, Stadler, 2015; Srivastava, 2015).

Первая микроРНК животных, была открыта у нематоды *C. elegans* как регулятор временнуго хода развития. Позже у этого вида нематоды была обнаружена другая микроРНК let-7 с функцией, подобной lin-4; с тех пор идентифицированы сотни микроРНК у различных представителей многоклеточных животных (см. Slack, Ruvkun, 1998; He, Hannon, 2004; Sperling, Peterson, 2009; Hertel, Stadler, 2015). Ген *let-7* консервативен, его гомологи найдены у всех исследованных в этом отношении представителей Eumetazoa, включая немертин, плоских червей, нематод, дрозофилы, полихет, рыбки *Danio*, мыши, человека, но не обнаружены у губок, книдарий и бескишечных турбеллярий (Pasquinelli, Ruvkun, 2002; Kato, Slack, 2008; Sperling, Peterson, 2009). Эти данные свидетельствуют об эволюционном возникновении микроРНК let-7 перед дивергенцией Protostomia и Deuterostomia (Pasquinelli et al., 2005; Sperling, Peterson, 2009; Pasquinelli, 2012).

Благодаря небольшому размеру и простой структуре микроРНК достаточно легко формируются de novo (Hertel, Stadler, 2015). Эволюционное появление новых семейств микроРНК связано с ключевыми морфологическими инновациями; такая взаимосвязь дает возможность по-новому понять многие вопросы филогении животных (Sperling, Peterson, 2009; Hertel, Stadler, 2015; Srivastava, 2015). Исследования микроРНК у различных представителей Metazoa свидетельствуют о значительном расширении репертуара регуляторных микроРНК перед дивергенцией Bilateria, поскольку гены микроРНК отсутствуют в геномах Placozoa и весьма малочисленны у губок и книдарий (Grimson et al. 2008; Ryan et al. 2013; Hertel, Stadler, 2015; Srivastava, 2015).

Выявлена корреляция существенного разнообразия и структурных особенностей микроРНК с иерархией системы Eumetazoa и морфологической сложностью организма Metazoa (Berezikov et al., 2006; Sempere et al., 2006; Wheeler et al., 2009; Hertel, Stadler, 2015). Эволюционное формирование новых семейств микроРНК тесно связано с усложнением организации Metazoa и важнейшими морфофункциональными инновациями, и эта связь не просто коррелятивна, а каузальна (Wheeler et al., 2009). Возрастание разнообразия микроРНК в эволюции Metazoa свидетельствует об усилении этого типа регуляторного контроля (Sempere et al. 2006; Grimson et al. 2008; Erwin, 2009; Wheeler et al. 2009; Srivastava, 2015).

Предполагается несколько вспышек эволюционного разнообразия микроРНК на разных этапах эволюционных процессов, как правило, сопряженных с возрастанием сложности организма. Скачкообразное увеличение числа микроРНК у позвоночных животных совпадает с возникновением яйцекладущих Amniota, плацентарных млекопитающих и высших приматов (Berezikov et al., 2006; Peterson et al., 2009; Wheeler et al. 2009; Srivastava, 2015; Hertel, Stadler, 2015).

Среди сотен микроРНК человека идентифицированы как консервативные, общие с беспозвоночными, позвоночными животными и приматами, так и вновь возникшие микроРНК, отличающие человека от других приматов, включая шимпанзе (Berezikov et al., 2006). При сравнении эволюционно консервативных ортологичных последовательностей ДНК амниот у человека найдены 202 участка ДНК с изменениями, ускоренными со времени расхождения от общего предка с шимпанзе. В состоящем из 118 пар нуклеотидов регионе HAR1 (human accelerated region), который транскрибируется как микроРНК, специфически экспрессирующаяся в развивающемся неокортексе человека, найдено 18 нуклеотидных замен по сравнению с шимпанзе, тогда как шимпанзе и курица различается лишь двумя заменами (Beniaminov et al., 2008). Предполагается, что молекулярная эволюция этой микроРНК связана с возникновением новых функций неокортекса человека.

Таким образом, в эволюции человека наблюдалось существенное ускорение замен нуклеотидов в некоторых областях ДНК (Beniaminov et al., 2008). Обнаружено, что из 325 экспрессирующихся в мозжечке и префронтальном кортексе микроРНК различаются у человека и шимпанзе (до 11%), а подобная разница между человеком и макакой достигает 31% (Hu et al. 2011). Эти данные указывают на связь изменений экспрессии микроРНК с эволюцией когнитивных функций человека (Hu et al. 2011). Следует отметить, что в эволюции многоклеточных животных происходила также потеря части семейств микроРНК, отчетливо проявившаяся у представителей нематод и оболочников (Hertel, Stadler, 2015).

Малые регуляторные РНК играют существенную роль в регуляции экспрессии *Hox*-генов. Консервативная микроРНК *mir-10* считывается с межгенного промежутка между *Hox4* и *Hox5* у позвоночных, некоторых насекомых, включая дрозофилу и нематоду *Caenorhabditis* (Yekta et al., 2008). Таким образом, локализация генов, кодирующих микроРНК, обнаружена в *Hox*-кластерах представителей всех трех эволюционных ветвей Bilateria. Участие микроРНК в регуляции экспрессии *Hox*-генов, очевидно, является анцестральным признаком (Бакаленко, 2014).

Показано, что микроРНК выполняют важную функцию в регуляции самообновления и дифференцировки стволовых клеток (Gangaraju, Haifan, 2009). Специфическая микроРНК, взаимодействующая с белком Piwi, piРНК (Piwi-interactingRNA), участвует в поддержании недиффе-

ренцированного состояния и пролиферативной способности гаметогенных стволовых клеток. Взаимодействия piRNA с белками Piwi играют ключевую роль в поддержании стволовости гаметогенных клеток, супрессии транспозонов и мРНК, а также определении структуры хроматина (Pasquinelli, Ruvkun, 2002; Kato, Slack, 2008; Ewen-Camden et al., 2010; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013). Поддержание недифференцированного состояния и пролиферативной способности стволовых клеток, особенно во взрослом организме, правомерно рассматривать как локальную гетерохронию на клеточном уровне, а контролирующие такое состояние гены – как гены гетерохроний (Isaeva, 2015).

Сети генных взаимодействий

Развитие фенотипических признаков многоклеточных животных можно рассматривать как нелинейную функцию координированно действующих генных регуляторных сетей с множеством обратных связей (см. Hinman et al., 2003; Davidson, 2006; Колчанов и др., 2004; Колчанов, Суслов, 2006; Гунбин и др., 2007, 2008; Cabej, 2012; Minelli, 2015a, b). Эти сети включают большое число генов, кодирующих факторы транскрипции, множество последовательностей, контролирующих экспрессию каждого из этих генов, лиганды и рецепторы межклеточной сигнализации, (Erwin, Davidson, 2009; Peter, Davidson, 2011). Генные сети включают также последовательности, кодирующие регуляторные РНК, в частности, микроРНК (He, Hannon, 2004; Chen, Rajewsky, 2007). Все элементы кодирующих и некодирующих последовательностей ДНК вместе составляют «регуляторный геном». включающий многие тысячи единиц обработки информации в форме *cis*-регуляторных модулей, каждый из которых выполняет определенную функцию в контроле генной экспрессии. Взаимодействующие регуляторные гены формируют регуляторную сеть – геномную программу развития (Ben-Tabou de-Leon, Davidson, 2007; Alonso et al., 2009; Erwin, Davidson, 2009; Peter, Davidson, 2011; Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015).

Путь от гена к признаку в огромной степени связан также с эпигенетической регуляцией генной экспрессии, и генные регуляторные сети иногда понимаются широко – как сеть взаимодействий продуктов генной активности: мРНК, некодирующих РНК и белков. У эукариотических организмов между транскрипцией и трансляцией функционирует несколько регуляторных этапов: на уровне нуклеосом, модификации белков хроматина, транспорта мРНК, процессинга и сплайсинга мРНК. На каждом из этих уровней возможна своя комбинаторика. Например, комбинаторика экзонов и интронов в ходе альтернативного сплайсинга мРНК позволяет получить с одной пре-мРНК множество вариантов белка (Lewin, 1994; Modrek, Lee, 2002; Kampa et al., 2004; Alonso, 2008).

Увеличения числа уровней иерархии происходит также за счет образования сложных молекулярных регуляторных комплексов. Использование конформационных кодов позволяет на несколько порядков увеличить потенциальное разнообразие протеомных сетей.

Таким образом, с ростом числа уровней регуляции происходит экспоненциальное возрастание сложности генных сетей с приобретением огромной емкости их регуляторного кода; комбинаторный принцип кодирования генетической информации рассматривается как ароморфоз, позволивший почти безгранично наращивать сложность генетических программ без существенного увеличения размеров геномов (Колчанов, Суслов, 2006; Гунбин и др., 2007, 2008).

Становление сложных генных регуляторных сетей сопутствовало возникновению Metazoa (Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015; Srivastava, 2015). Макроэволюционные приобретения и потери Bilateria в значительной мере обусловлены контролем их пространственно-временнóй организации генными регуляторными сетями, которые включают гомеобокс-содержащие гены, прежде всего гены *Hox*-кластеров, а также гены, регулирующие гетерохронии и гетеротопии (Gould, 2002; Benton, Harper, 2009; David, Mooi 2014; Кулакова и др., 2014; Isaeva, 2015; Minelli, 2015a).

Адаптивная эволюция транскрипционных факторов, функционирующих в онтогенезе, коррелирует с такими ароморфозами, как появление крупных таксонов билатерий, выход позвоночных на сушу (Гунбин и др., 2008). Выявлена связь между эволюцией генов сигнальных каскадов развивающегося организма и ароморфозами билатерий; в частности, адаптивная эволюция гена *Hh* (*Hedgehog*) коррелирует с возникновением членистоногих и хордовых при кембрийском взрыве (Гунбин и др., 2008). При сравнительном анализе генных сетей каскадов передачи сигналов у представителей беспозвоночных (*D. melanogaster* и *C. elegans*) и *Homo sapiens* обнаружено резкое, скачкообразное возрастание количества компонентов сигнальных путей у человека (Гунбин и др., 2008).

В ходе развития животных осуществляется контроль пространственной и временнóй дифференциальной экспрессии тысяч генов; инструкции для спецификации и дифференцировки клеток кодируются соответствующими регуляторными генами (Ben-Tabou de-Leon, Davidson, 2007; Peter, Davidson, 2011). Молекулярный анализ процессов развития вскрывает модулярную архитектуру развивающихся систем и сетей их генной регуляции (Wainwright, 2009; Hinman et al., 2003; Davidson, 2006). Эволюционные изменения морфофункциональных признаков зависят от реорганизации архитектуры генных сетей, регулирующих развитие, а консерватизм морфологии – от сохранения предковых черт генных регуляторных сетей. План строения тела в каждом таксоне и на каждой стадии развития включает морфологические черты, определяемые и эволюционным консерватизмом, и преобразованием генных регуляторных

сетей, в частности, дупликациями генов с их последующей дивергенцией (Davidson, 2006; Davidson, Erwin, 2006; Озернюк, 2010а, 2011; Peter, Davidson, 2011; Озернюк, Мюге, 2013; Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015; Srivastava, 2015).

Программа развития закодирована как огромная сеть функционально взаимосвязанных *cis*-регуляторных модулей ДНК; различные субконтуры программы активны в различных доменах эмбриона и отличаются по времени экспрессии (Davidson, 2006; Erwin, Davidson, 2009; Peter, Davidson, 2011). Активные модули включают экспрессию регуляторных генов, которые определяют следующее регуляторное состояние клетки до тех пор, пока не будет достигнута спецификация и дифференцировка (Levine, Davidson 2005; Davidson, 2006; Ben-Tabou de-Leon, Davidson, 2007; Erwin, Davidson, 2009).

Каскадное, иерархичное расширение сети регуляторных факторов с вовлечением все большего их числа сопровождается регионализацией наборов определенных регуляторов (транскрипционных факторов и сигнальных систем) в определенных территориях зародыша. Регуляция пролиферации, апоптоза, миграции клеток и движения клеточных пластов вовлечена в генные регуляторные сети. Формирование общего плана строения тела происходит на основе развертывания регуляторной сети с прогрессивным уточнением деталей плана организации тела, его архитектуры.

Генные регуляторные сети определяют экспрессию генов-мишеней, вплоть до наборов структурных генов, контролирующих тип клеточной дифференцировки с формированием функционирующих тканей (Erwin, Davidson, 2002; Hinman et al., 2003; Davidson, 2006; Андреева, Кулакова, 2008). В контексте данного подхода детально исследована генная регуляторная сеть, управляющая спецификацией энтомезодермы зародыша морского ежа *Strongylocentrotus purpuratus* (Ben-Tabou de-Leon, Davidson, 2007; Erwin, Davidson, 2009). В ходе раннего дробления этого вида морского ежа унаследованная материнская анизотропия ведет к активации определенных регуляторных генов в микромерах, которые включают субконтуры первичной спецификации. Благодаря материнской анизотропии β-катенин сначала стабилизируется только в вегетативной пластинке зародыша, главным образом в микромерах. После стабилизации β-катенин входит в ядро и связывается с фактором транскрипции TGF1, формируя комплекс, допускающий транскрипцию (Ben-Tabou de-Leon, Davidson, 2007; Erwin, Davidson, 2009).

Составлена карта *cis*-регуляторных входов и функциональных взаимосвязей регуляторных генов, иллюстрирующая многие аспекты зиготического контроля в раннем развитии морского ежа (Oliveri, Davidson, 2004; Ben-Tabou de-Leon, Davidson, 2007). В ответ на межклеточную сигнализацию между стадиями 16 и 128 бластомеров клеточные линии, да-

ющие начало кишке, биоминеральному скелету личинки и набору других клеток мезодермы, отделяются от эктодермальной стенки личинки. Морфогенетические движения гаструляции следуют за этими событиями спецификации территорий и судьбы клеток. Эти события происходят после включения региональной активации генов, необходимых для клеточной подвижности и других функций при гаструляции. После установления дефинитивных регуляторных состояний начинают экспрессироваться наборы генных комплексов дифференцировки клеток. Сеть спецификации энтомезодермы у *S. purpuratus* включает почти 50 генов (Oliveri, Davidson, 2004; Ben-Tabou de-Leon, Davidson, 2007). Сравнительное исследование генных регуляторных сетей в развитии этого вида морских ежей и морской звезды *Asterina miniata* показало, что спецификация энтодермы определяется консервативными модулями генных сетей. Среди иглокожих лишь у морских ежей в раннем развитии специфицируется линия микромеров, которые секретируют биоминеральный личиночный скелет; развитие морского ежа отличается генной экспрессией в скелетогенной линии клеток, отсутствующей, в частности, у зародышей морской звезды (Hinman et al., 2003; Gao, Davidson, 2008).

Была выявлена генная регуляторная сеть, определяющая спецификацию и дифференцировку скелетогенной линии морских ежей (Oliveri et al., 2008), определены общие компоненты такой сети, вовлекаемые в скелетогенез и у зародышей, и у взрослых морских ежей (Gao, Davidson, 2008). Помимо генов дифференцировки и сигнальных путей, найдено 23 гена этой сети, кодирующих транскрипционные факторы. Взаимодействие регуляторных генов генерирует последовательность регуляторных состояний от функциональной идентичности микромеров до стабилизации экспрессии набора регуляторных генов дифференцировки. Ряд этих генов используется в процессе биоминерализации кальцитных скелетных элементов и взрослых морских ежей, и их зародышей, хотя для генов некоторых семейств найдены паралоги, часть которых функционируют у зародышей, а другие – у взрослых морских ежей. Предполагается, что в ходе эволюции произошла мобилизация и вставка, кооптация в эмбриональное развитие линии микромеров древней плезиоморфной регуляторной системы, контролирующей события скелетогенеза (Gao, Davidson, 2008).

Многие из генов скелетогенного контура экспрессируются также и в нескелетогенной мезодерме иглокожих, что позволяет авторам судить о палеогеномике скелетогенеза и эволюционной диверсификации мезодермы билатеральных животных. Преждевременная экспрессия скелетогенных функций в линии микромеров – классический пример эволюционной гетерохронии, при которой генная регуляторная сеть скелетогенеза переносится в эмбриональное развитие посредством немногих изменений в *cis*-регуляторных связях некоторых генов (Gao, Davidson, 2008).

Для генных регуляторных сетей типичны петли позитивной и негативной обратной связи. Возможно рекуррентное, повторное использование регуляторных генов (Ben-Tabou de-Leon, Davidson, 2007), пример которого представляет программа скелетогенеза у взрослых морских ежей и их зародышей (Gao, Davidson, 2008; Peter, Davidson, 2011). Повторное включение генной активности лежит в основе повторяемых событий развития. В ходе морфогенеза дыхательной системы млекопитающих и дрозофилы найдена многократно повторяемая экспрессия генов, кодирующих фактор роста фибробластов и его рецептор, при прохождении каждого шага ветвления (Metzger, Krasnov, 1999; Warburton et al., 2000). Многократное повторное включение генной активности обнаружено и в процессе сегментации позвоночных. Таким образом, морфогенез повторяемых биологических структур детерминируется компактным генетическим кодированием, поскольку один и тот же биологический механизм многократно повторяется (Исаева, 2009, 2010). Иммунная система позвоночных дает пример биологической системы, способной к генерации практически бесконечного репертуара специфических ответов путем комбинаторного использования нескольких сотен генов (см. Claverie, 2001).

Между генотипом и фенотипом возможны сложные и удивительные эволюционные отношения; различные эволюционные сценарии развития у представителей разных таксонов приводили к развитию гомологичных или конвергентных морфологических структур (Abouhelf, 1997; Wray, Abouhelf, 1998; Захаров-Гезехус, 2008). Генные регуляторные сети, контролирующие транскрипцию, описаны и у растений (например, см. Richardt et al., 2007; Bruijn et al., 2012).

Генные сети можно разделить на четыре класса: сети гомеостаза, циклических процессов, стрессового ответа и морфогенеза. В сетях гомеостаза доминируют отрицательные обратные связи, в циклических сетях имеется баланс между положительными и отрицательными обратными связями, в остальных важную роль играют положительные обратные связи, уводящие систему от исходного состояния. Центральные регуляторы многих генных сетей морфогенеза – *Hox*-гены. Генные сети позднего эмбриогенеза – сложный ансамбль, регулируемый обратными связями, экспрессия различных регуляторов которого разнесена во времени и пространстве (Колчанов и др., 2004; Суслов и др., 2004; Гунбин и др., 2008).

Выявлена и исследована регуляторная сеть, определяющая функции гаметогенных стволовых клеток в ходе эволюции многоклеточных животных. Ядро программы клеток половой линии и плюрипотентных гаметогенных стволовых клеток представлено генами *vasa/pl10*, *piwi/auberdine*, *nanos*, *tudor*, *pumilio*, *staufen*, проявляющими поразительный эволюционный консерватизм (Leatherman, Jongens, 2003; Extavour, 2008; Watanabe et al., 2009; Gustafson, Wessel, 2010; Alié et al., 2011; Sroji, Extavour, 2011; Shulalyuk, Isaeva, 2012, 2013). Эта генная сеть состоит из

генных модулей, функционирующих сходным образом у разных животных, взаимодействие которых весьма стабильно и консервативно в разное время и в различных местах развивающегося организма. Взаимодействие гена *vasa*, других генов и их продуктов в гаметогенных клетках свидетельствует о сложной сети позитивной и негативной регуляции на многих уровнях, включая транскрипцию, трансляцию, посттрансляционные модификации и эпигенетический контроль архитектуры хроматина (Cinalli et al., 2008; Ewen-Camden et al., 2010). Специфическая консервативная регуляторная сеть подавляет программу транскрипции соматической дифференцировки и обеспечивает поддержание гаметогенных стволовых клеток (Cinalli et al., 2008).

На основе взаимодействий известных компонентов зародышевой плазмы дрозофилы и их гомологов у мыши идентифицированы некоторые пути функциональных взаимодействий белковых продуктов генов (Shulalyuk, Isaeva, 2012). Белки половой плазмы, кодируемые гомологами генов *vasa*, *tudor*, *pumilio*, *nanos* и других, формируют сеть, ответственную за дифференцировку клеток половой линии. Выявлены и некоторые другие сети взаимодействий, определяющие важные функции клеток половой линии, как, например, опосредованный РНК сайленсинг генов, активация трансляции мРНК в ооцитах и ранних зародышах, подавление активности каспаз. Значительная часть сети участвует в формировании связей, контролирующих прохождение клеточного цикла. Сетевой контроль замыкает множественные петли связи одного гена с другим, формируя динамичные механизмы включения и выключения генной активности в цитоплазме (см. Shulalyuk, Isaeva, 2012, 2013). Структурированный комплекс герминальной плазмы – клеточная органелла, контролирующая включение и выключение таких петель связи.

Молекулярная сигнализация и потенциал развития клеток половой линии и плюрипотентных стволовых клеток животных с бесполым размножением свидетельствуют об эволюционном и онтогенетическом родстве и анцестральной регуляторной сети, включающей консервативные *vasa*- и *piwi*-подобные гены (Alié et al., 2011; Ewen-Campen et al. 2010; Gustafson, Wessel, 2010; Sroji, Extavour, 2011). Вероятно, такая генная регуляторная сеть не ограничена клетками половой линии, но функционирует и в плюрипотентных гаметогенных клетках, способных дать начало и половым, и соматическим клеткам (Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013). В процессе эволюции увеличивается число регуляторных генов и дупликаций генов, контролирующих морфогенез (Бердников, 2003). Простая, линейная связь числа генов и сложности организма отсутствует, сложная сеть генов функционирует как единое целое с множеством обратных связей; при исследовании генных взаимодействий необходимо учитывать нелинейность сложных связей внутри генных сетей (Claverie, 2001; Venter et al., 2001; Srivastava, 2015).

Глава 4. РОЛЬ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ РАЗВИТИЯ

Открытие основных закономерностей генетической регуляции внутриклеточных процессов стало одним из главных достижений современной биологии. Тем не менее, при переходе на морфогенетический (клеточный и тканевой) и интегративный (физиологический) уровни формирование и функционирование клеточных и тканевых структур не удается объяснить только генетическими регуляторными механизмами. Для этих и многих других сложных процессов и явлений К. Уоддингтон – крупный английский генетик и эмбриолог, предложил новое понятие – *эпигенетические* (надгеномные) механизмы регуляции (Waddington, 1940, 1942; Уоддингтон, 1947, 1957, 1964).

В настоящее время эпигенетическому контролю процессов жизнедеятельности, а также регуляции индивидуального развития отводится первостепенная роль. Уоддингтон предложил термин «эпигенетика» и сформулировал концепцию «эпигенетического ландшафта» – набора эпигенетических траекторий (креодов) онтогенеза. Таким образом, под эпигенетикой понимают совокупность регуляторных механизмов, которые не закодированы непосредственно в геноме.

Эпигенетические механизмы контролируют множество процессов жизнедеятельности; индивидуальное развитие организмов также регулируются этими факторами. Эти механизмы включают метилирование ДНК, модификации гистонов, микроРНК и РНК-интерференцию, которые участвуют в контроле таких процессов как геномный импринтинг, инактивация Х-хромосомы, эффект положения генов, парамутации, супрессия транспозонов и др. Эпигенетические факторы вовлечены в регуляцию репликации и репарации ДНК, транскрипции и трансляции, защите генома от чужеродных элементов, сборке нуклеосом и др. (рис. 20).

Вместе с тем эти механизмы участвуют в регуляции важнейших морфогенетических событий: формировании осей полярности зародыша, межклеточных и индукционных взаимодействиях, дифференцировке и трансдифференцировке, репрограммировании соматических клеток, апоптозе. Значительная часть эпигенетических механизмов контроля связана с подавлением (сайленсингом) экспрессии генов.

Сайленсинг генов – универсальный механизм эпигенетического контроля

Одним из универсальных способов регуляции генной активности служит сайленсинг. Понятие «сайленсинга» генов, предложенное в 1975 г. объединяет несколько эпигенетических механизмов регуляции экспрес-

сии генов (Moore, Haig, 1991; Prusiner, 1994, 1998; Clemson et al., 1996; Rassoulzagedan et al., 2006; Fire et al., 1998; Montgomery, Fire, 1998; Mermoud et al., 2002; van Leeuwen, Gottschling, 2002; Аравин и др., 2002; Bird, 2002; Mello, Conte, 2004; Кленов, Гвоздев, 2005; Кленов и др., 2007; Ikegami et al., 2009; Hackett, Surani, 2013; Takikawa et al., 2013; Monk, 2015).

Сайленсинг генов осуществляется как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровнях регуляции. На транскрипционном уровне, сайленсинг, возникающий в результате недоступности ДНК для РНК-полимераз и факторов транскрипции, включает такие механизмы как эффект положения генов, геномный импринтинг, парамутации, сайленсинг транспозонов, сайленсинг трансгенов и др. Инактивация генов на посттранскрипционном уровне, связанная обычно с деградацией мРНК, включает прежде всего РНК-интерференцию.



Рис. 20. Участие эпигенетических механизмов в регуляции биологических процессов.

Сайленсинг генов играет существенную роль в регуляции процессов развития. Общеизвестно участие механизмов сайленсинга в процессах регуляции дифференцировки. Экспрессии многих генов в ходе дифференцировки предшествует выключение ряда других генов. В частности, сайленсинг генов широко представлен и детально исследован на примере развития нервной системы позвоночных животных.

Данный вид эпигенетической регуляции предохраняет организм от чужеродных ДНК: транспозонов и вирусов. В геноме есть определенные участки ДНК (сайленсеры), отвечающие за репрессию транскрипции того или иного гена. В частности, в промоторах ряда генов мыши были найдены сайленсеры, которые ингибируют экспрессию этих генов во всех тканях, кроме нейронов.

Известно, что многие болезни связаны с нарушениями эпигенетических механизмов регуляции. К ним относятся онкологические, сердечно-сосудистые и неврологические, в том числе нейродегенеративные заболевания, метаболические расстройства (диабет 2-го типа, ожирение), нарушения памяти и др. Развитие данных заболеваний обусловлено чаще всего мутациями генов, вовлеченных в эпигенетические механизмы регуляции. Это мутации ДНК-метилтрансфераз, метилCpG-связывающих белков, гистоновых деацетилаз, белков сем. SWI/SNF, участвующих в ремоделировании хроматина и др. (Li et al., 2013; Berdasco, Esteller, 2013).

МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК

Метилирование ДНК, будучи одним из важнейших механизмов эпигенетического контроля внутриклеточных процессов, участвует в регуляции репликации, репарации, транскрипции, рекомбинации, а также в защите от чужеродных последовательностей ДНК и мобильных элементов (Vanyushin et al., 1970; McGhee, Ginder, 1979; Jones, Taylor, 1980; Heby, 1995; Bestor, Tucko, 1996; Bestor, 1998; Cooney, 1999; Bird, 2002; Ванюшин, 2006; Esteller, 2007; Ikegami et al., 2009; Hackett, Surani, 2013; Takikawa et al., 2013; Monk, 2015). Метилирование ДНК взаимосвязано с регуляцией таких процессов как геномный импринтинг, инактивация Х-хромосомы, изменение структуры хроматина, регуляторное взаимодействие с малыми РНК (dsRNA) и др. Особую роль играет взаимодействие метилирования ДНК и модификации гистонов, составляющее основу особого механизма регуляции транскрипционной активности хроматина.

Метилирование ДНК – присоединение метильной группы к цитозину или аденину, будучи одним из основных механизмов сайленсинга генов, стабилизирует структуру ДНК и препятствует связыванию с ней регуляторных белков (прежде всего, транскрипционных факторов), РНК-полимеразы, а также других белков, что в итоге влияет на важнейшие фун-

кции ДНК: транскрипцию, репликацию, репарацию (Bestor, Tucko, 1996; Cooney, 1999; Bestor, 2000; Soppe et al., 2000; Bird, 2002; Ванюшин, 2006; Esteller, 2007; Ikegami et al., 2009).

Процесс метилирования ДНК «обслуживают» гены, кодирующие более десятка белков: а) несколько форм метилтрансфераз, при помощи которых происходит как поддержание уровня и характера ДНК-метилирования в митотических делящихся клетках, так и метилирование *de novo* (Leonhardt et al., 1992; Bestor, Verdine, 1994; Heby, 1995; Okano et al., 1999); б) метилCpG-связывающие белки (MeCP), которые взаимодействуют с метилированными последовательностями ДНК с одной стороны, и гистонами с другой стороны, участвуя, таким образом, в специфической регуляции экспрессии генов (Boyes, Bird, 1991, 1992; Kimura, Shiota, 2003; Ikegami et al., 2009). Уровень метилирования ДНК, регулирует характер экспрессии генов, оказывает влияние на структуру хроматина более высоких уровней организации.

Уровень ДНК-метилирования варьирует на разных этапах онтогенеза, меняется при изменении функционального состояния клеток, а также воздействии внутренних и внешних факторов на организм; с этим видом эпигенетического контроля связано фенотипическое проявление мутаций. Метилирование ДНК играет важную роль в злокачественном перерождении и других патологических состояниях организма. Феноменология и механизмы данного вида эпигенетической регуляции стали основой концепции метилома (см. Hackett, Surani, 2013).

Особенности метилирования ДНК и метилтрансферазы

Уровень метилирования ДНК заметно отличается у разных организмов: бактерий, грибов, растений, беспозвоночных и позвоночных животных (Bestor, Tycko, 1996; Cooney, 1999; Bestor, 2000; Ванюшин, 2004; Ikegami et al., 2009). Различные участки ДНК в геноме метилированы в разной степени. Высокий уровень метилирования характерен для сателлитов и других повторяющихся последовательностей, транспозонов, а также последовательностей, свойственных гетерохроматину.

Характер метилирования ДНК у разных организмов также отличается. В частности, у грибов и млекопитающих ДНК-метилирование происходит в основном по CG-сайтам, тогда как у растений этот процесс протекает в составе палиндромов CG-, CNG- и несимметричных NN-сайтов (где N – любой нуклеотид) (Bestor, 2000; Кленов, Гвоздев, 2005; Ikegami et al., 2009).

Метилирование и деметилирование ДНК в соматических клетках взрослого организма происходит обычно в CpG-динуклеотидах, которые часто формируют скопления (островки) в определенных участках ДНК. Считается, что супрессия CpG-последовательностей служит важным направлением природного мутагенеза и эволюционных процессов

(Cooney, 1999; Bestor, 2000; Ванюшин, 2004; Кленов, Гвоздев, 2005). Очевидно, что уровень ДНК-метилирования в клетках и тканях определяется соотношением процессов метилирования и деметилирования. Деметилирование ДНК подразделяют на активное (катализируемое ферментами) и пассивное.

Метилирование ДНК в результате присоединения метильной группы к цитозину или аденину осуществляется при помощи ферментов метилтрансфераз без изменения нуклеотидной последовательности ДНК. В клетках млекопитающих функционируют несколько форм метилтрансфераз, осуществляющих: а) поддержание метилированного состояния ДНК в делящихся клетках; б) метилирование новых сайтов, что наблюдается обычно во время развития растений и животных и, в частности, в ходе их дифференцировки (Bestor, Tucko, 1996;. Cooney, 1999; Chang, Whitelaw, 2004; Estller, 2007; Ikegami et al., 2009).

Процессы ДНК-метилирования осуществляются несколькими изоформами метилтрансферазы: Dnmt1, Dnmt2, Dnmt3a и Dnmt3b. Форма Dnmt1 поддерживает метилированное состояние ДНК в митотически делящихся клетках (Li et al., 1992; Okano et al., 1999; Bestor, 2000). После репликации изоформа Dnmt1 узнает две полуметилированные дочерние молекулы ДНК и превращает их в полностью метилированные. Таким образом, статус метилирования ДНК сохраняется после репликации и наследуется в ряду клеточных поколений. Эмбрионы мыши, содержащие направленные гомозиготные мутации гена *Dnmt1*, развивались с нарушениями и погибали в середине периода беременности (Li et al., 1992). Форма фермента Dnmt2 осуществляет эпигенетический контроль функции центромер (Bestor, 2000). Формы Dnmt3a и Dnmt3b метилируют новые сайты в период раннего развития растений, животных и человека, в частности, в ходе клеточной дифференцировки (Bestor, 2000). Было установлено, что некоторые формы ДНК-метилтрансфераз являются частью хроматин-ремоделирующих комплексов, которые служат для поддержания определенной фиксированной структуры хроматина в хромосомах.

В изучении функций ДНК-метилтрансфераз важные результаты были получены в экспериментах с нокаутом соответствующих генов. Нокаут гена, кодирующего синтез Dnmt1 у мыши, приводит к гибели эмбрионов на 8–9 сутки развития, а нокаут *Dnmt3b* вызывает гибель эмбрионов на 14–18 сутки, тогда как животные с нокаутом *Dnmt3a* погибают в 4-недельном возрасте (Li et al., 1992; Okano et al., 1999). Нокаут одного из генов ДНК-метилтрансфераз приводит к остановке развития зародышей шпорцевой лягушки и включению программы апоптоза.

В ходе репликации появляются полуметилированные ДНК, и в этом состоянии функционирует большинство генов в интерфазном ядре. Перед репликацией ДНК-метилазы поддерживающего типа превращают

полуметилированные сайты в постоянно метилированные (Ванюшин, 2004, 2006). Метилированный цитозин в одной из цепей ДНК служит отличительным признаком и условием для метилирования цитозина в комплементарной цепи ДНК. Эти гены инактивируются и в них происходит репликация ДНК.

МетилCpG-связывающие белки

При изучении роли метилирования ДНК в регуляции экспрессии генов был обнаружен новый класс белков-посредников. Оказалось, что с метилированными последовательностями ДНК взаимодействуют метилCpG-связывающие белки (MeCP), участвующие в специфической регуляции экспрессии генов путем взаимодействия с гистонами (Jacobsen, Meyerowitz, 1997; Ikegami et al., 2009). О важной роли метилCpG-связывающих белков свидетельствуют также данные, согласно которым мутация расположенного на Х-хромосоме гена, кодирующего MeCP2, приводит к развитию психоневрологических заболеваний нервной системы, в частности, Rett-синдрома (Hagberg et al., 1983; Ikegami et al., 2009).

Первоначально функции метилCpG-связывающих белков (их доменов) исследовались на растениях, однако впоследствии существенные результаты, касающиеся механизмов взаимодействия этих белков с гистонами, были получены на животных (Jacobsen, Meyerowitz, 1997; Ikegami et al., 2009). В частности, в геноме человека обнаружено 12 генов, которые кодируют белки, содержащие метилCpG-связывающие домены (MeCP2, MBD1, MBD2 и MBD4). Таким образом, метилCpG-связывающие белки осуществляют взаимодействие ДНК-метилирования с гистонами, которые подвергаются модификациям (деацетилированию), регулируя тем самым генную активность (Ikegami et al., 2009).

Белок MeCpG1 в соматических клетках млекопитающих присутствует в избытке, тогда как в клетках зародышей ранних стадий развития он обнаружен в следовых количествах. Связывание этого белка с ДНК эффективно только при достаточно значительном количестве симметрично метилированных CpG-мотивов (не менее 15) для каждой молекулы MeCpG1 (Heby, 1995). Следует также отметить, что содержание в клетках белка MeCpG2, который концентрируется в прицентромерном хроматине, выше по сравнению с концентрацией MeCpG1. В соматических клетках экспрессия MeCpG2, как и MeCpG1, выше, чем в эмбриональных клетках (Heby, 1995; Ikegami et al., 2009).

Взаимосвязь метилирования ДНК и модификации гистонов

При изучении различных типов эпигенетической регуляции на разных стадиях онтогенеза и во взрослом организме была установлена связь между метилированием ДНК и модификацией гистонов. В частности,

эпигенетический статус T-DMR – метилированных районов ДНК, обусловлен взаимосвязью между ДНК-метилтрансферазами, ферментами модификации гистонов, отдельными классами гистонов, негистоновыми ядерными белками и некодирующими РНК (Bestor, 1998; Henry et al., 1999; Aufsatz et al., 2002; Deplus et al., 2002; Tamaru, Selker, 2001; Tarig et al., 2003; Hattori et al., 2004, 2007; Ванюшин, 2006; Ngu et al., 2008; Ikegami et al., 2009; Berdasco, Esteller, 2013).

Исследование механизмов ДНК-метилирования показало, что участки ДНК, подвергающиеся метилированию, служат метками для взаимодействия с белками, которые связываются с гистоновыми ацетилазами, контролируя, таким образом, транскрипционную активность хроматина (Henry et al., 1999). Было показано также, что гистоновая деацетилаза НДА6 необходима для метилирования ДНК, индуцированного малыми dsРНК (Aufsatz et al., 2002). Эти данные послужили основой для нового направления исследований эпигенетической регуляции: взаимосвязи метилирования ДНК и модификации гистонов.

Связь между этими процессами двусторонняя (Bestor, 1998; Tamaru, Selker, 2001; Tarig et al., 2003; Ikegami et al., 2009; Berdasco, Esteller, 2013). В частности, установлено, что мутации ДНК-метилтрансферазы1 приводят к потере метилирования гистона H3K9 в гетерохроматиновых районах, включая транспозоны (Tarig et al., 2003). Выключение гена ДНК-метилтрансферазы1 при помощи siРНК вызывает снижение уровня метилирования гистонов H3K9me1, H3K9me2, H3K9me3 в рибосомальной ДНК. С другой стороны, у гриба *Neurospora crassa* мутация в гене *dim5*, который кодирует метилтрансферазу гистона H3K9, приводит к нарушению не только метилирования гистонов, но и метилирования ДНК (Tamaru, Selker, 2001).

При исследовании взаимодействия между метилированием ДНК и модификациями гистонов было установлено, что экспрессия гена *Oct-4* в эмбриональных стволовых клетках связана с гипометилированным состоянием T-DMR этого гена и модификациями гистонов (Hattori et al., 2004; Ikegami et al., 2009). Сходная ситуация характерна для экспрессии гена *Nanog*: T-DMR этого гена в эмбриональных стволовых клетках гипометилированы, а лизин K4 гистона H3 гиперметилирован. В этих клетках также гиперацетилированы гистоны H3 и P4 (Hattori et al., 2004, 2007; Ikegami et al., 2009).

Таким образом, взаимосвязь эпигенетических регуляторов на примере ДНК-метилирования и модификации гистонов свидетельствует о согласованных функциях этих механизмов, что дает возможность осуществлять более эффективный контроль дифференциальной экспрессии генов на разных этапах онтогенеза, а также участвовать, как предполагается, в регуляции такого важнейшего процесса индивидуального развития как морфогенез.

Метилирование ДНК и функциональное состояние организма

Уровень метилирования ДНК варьирует на разных этапах онтогенеза, при изменении функционального состояния организма, при различных заболеваниях, а также при воздействии различных соединений, в частности, антиоксидантов. Изменение гормонального статуса организма приводит к изменению ДНК-метилирования: при введении животному гидрокортизона в печени заметно меняется уровень и характер метилирования ДНК. При этом происходит активация различных генов. Максимальное увеличение содержания 5-метилцитозина в печени крыс наблюдается через 8 час после внутрибрюшинного введения гормона или через 40 мин после внутривенного введения (Ванюшин, Романенко, 1979). Влияние антиоксидантов на организм животных также связано с ДНК-метилированием. Было установлено, в частности, что антиоксидант ионол (BHT) вызывает деметилирование ДНК; сходное влияние оказывает антиоксидант эпигаллокатехингаллат (EGCG) – компонент зеленого чая.

Установлено, что геномный импринтинг является результатом сайленсинга генов, который обусловлен метилированием ДНК, а также модификацией гистонов. При инактивации Х-хромосомы в результате подавления транскрипции путем синтеза нетранслируемой РНК состояние инактивации закрепляется метилированием определенных участков ДНК (Clemson et al., 1996; Cheng, Whitelaw, 2004).

Фенотип некоторых мутантных животных связан с метилированием ДНК. Мыши с мутацией «агути» имеют желтую окраску шерсти и предрасположены к ожирению, диабету и раку. Кормление таких мышей накануне спаривания и в период беременности пищей, содержащей доноры метильных групп (фолиевая кислота, витамин В12, метионин, холин) способствует рождению здоровых мышат с нормальным фенотипом (шерсть бурой окраски и нормальная масса тела). Эти результаты объясняются метилированием ДНК, в том числе метилированием мутантного гена.

Еще один удивительный пример регуляторной роли данной модификации ДНК связан с обучением. Впервые идея участия метилирования ДНК в формировании памяти была высказана в 1969 г (Griffith, Mahler, 1969). Впоследствии в нейронах были обнаружены ДНК-метилтрансферазы и показано, что характер метилирования ДНК в центральной нервной системе меняется в различных состояниях: при стрессе, воздействии некоторых веществ, обучении. В итоге было установлено, что в процессе обучения изменяется характер метилирования ДНК нейронов, что свидетельствует об участии генома в формировании памяти, точнее, усвоении и закреплении в памяти новой информации, полученной в результате обучения (Ванюшин и др., 1974, 1977; Гуськова и др., 1977; Ванюшин, 2006; Liu et at., 2009; Miller et al., 2010; Yu et al., 2011; Biergans et al., 2012).

Таким образом, уровень метилирования ДНК меняется при изменениях функционального состояния организма – гормонального статуса, воздействия различных веществ, а также при многих видах патологий, прежде всего, онкологических и психоневрологических заболеваниях. Этот вид эпигенетического контроля изменяется также в ходе индивидуального развития.

Метилирование ДНК и онтогенетические процессы

В 1970 г. Б.Ф. Ванюшин с коллегами (Vanyushin et al., 1970), изучая нуклеотидный состав ДНК у животных, обнаружил метилированные остатки цитозина. В этой работе была высказана идея, согласно которой ДНК-метилирование регулирует экспрессию генов и клеточную дифференцировку. Впоследствии эта идея получила экспериментальное подтверждение в работах Ванюшина и его сотрудников (Ванюшин, Романенко, 1979; Романов и др., 1979; Mazin, 2009), а также в исследованиях других авторов (McGhee, Ginder, 1979; Jones, Taylor, 1980; Phillips, 2008; Heby, 1995; Bird, 2002; Jirtle, Skinner, 2007; Ngu et al., 2008; Ikegami et al., 2009; Hackett, Surani, 2013).

Возрастная динамика метилирования ДНК

Основанием для предположения Б.Ф. Ванюшина о роли этого вида модификации ДНК в процессах дифференцировки послужили полученные им и коллегами данные о ДНК-метилировании в отдельных тканях и органах горбуши разного возраста (Бердышев и др., 1967).

Уже в первых работах, посвященных данной проблеме, было показано, что уровень метилирования ДНК снижается с возрастом. При этом, чем больше продолжительность жизни у тех или иных видов животных, тем медленнее происходило возрастное снижение ДНК-метилирования (Vanyushin et al., 1973; Зиньковская и др., 1978; Ванюшин, Романенко, 1979; Романов и др., 1979; Vilson et al., 1987). На этом этапе исследований было установлено также снижение уровня метилирования ДНК в отдельных органах и тканях животных: рыб, крыс, мышей, коров и других видов позвоночных. Этот показатель снижается в тканях сердца, почек, селезенки и головного мозга (Зиньковская и др., 1978). Наиболее интенсивное снижение содержания 5-метилцитозина, отражающее степень метилирования, отмечено в эмбриональный период развития, когда процессы дифференцировки и морфогенеза протекают наиболее интенсивно (Ванюшин, Романенко, 1979; Романов и др., 1979).

С возрастом ослабевает также действие гормонов на метилирование ДНК (Ванюшин, Романенко, 1979). Введение молодым крысам гидрокортизона вызывает почти двукратное увеличение содержания 5-метилцитозина в печени, тогда как у старых животных подобная стимуляция

существенно ниже. К онтогенетическим особенностям ДНК-метилирования имеют отношение также обнаруженные Ванюшиным и его коллегами изменения данного вида эпигенетической регуляции во время нереста лососевых рыб (горбуша), когда их гормональный статус значительно изменяется (Бердышев и др., 1967).

Следует отметить, что на фоне общего снижения уровня ДНК-метилирования с возрастом в CpG-островках происходит гиперметилирование в стареющих клетках. Изменение метилирования ДНК при старении наблюдается в небольшой части генома; этот процесс тканеспецифичен и затрагивает как экспрессирующиеся, так и неэкспрессирующиеся гены.

В одной из первых работ, посвященной экспериментальной проверке идеи Б.Ф. Ванюшина, касающейся участия ДНК-метилирования в регуляции дифференцировки клеток, было установлено, что экспрессия генов β-глобина наблюдается в клетках с деметилированными генами, кодирующими данный белок, тогда как в клетках с метилированными β-глобиновыми генами их экспрессия блокирована (McGhee, Ginder, 1979). Участие ДНК-метилирования в регуляции экспрессии генов и клеточной дифференцировке было доказано также в экспериментах по влиянию 5-азацитидина – ингибитора метилирования ДНК. Оказалось, что подавление метилирования этим ингибитором приводит к экспрессии генов и дифференцировке клеток (Jones, Taylor, 1980; Hattori et al., 2004, 2007).

Последующие работы показали, что динамика уровня и характера метилирования ДНК во время индивидуального развития имеет более сложный характер (Heby, 1995; Liu et al., 2007, 2009; Ngu et al., 2008; Ikegami et al., 2009). Прежде всего, существенным было обнаружение в геноме тканеспецифических дифференциально метилированных районов (T-DMR) (Fazzari, Greally, 2004; Eckhardt et al., 2006; Yagi et al., 2008). Речь идет об уникальных последовательностях, состоящих из генов и их регуляторных элементов, которые группируются в отдельных участках генома. Профили метилирования ДНК в этих районах изменяются на отдельных стадиях онтогенеза, в различных типах клеток и тканей в ходе развития, в зародышевых и стволовых клетках, в зависимости от пола животного (Heby, 1995; Niwa et al., 2000; Harotti et al., 2004, 2007; Jirtle, Skinner, 2007; Ngu et al., 2008; Ikegami et al., 2009). Таким образом, профиль метилирования ДНК специфичен для каждого типа клеток и тканей, а также для каждой стадии индивидуального развития.

Существенное значение в изучении регуляции экспрессии генов имеет применение ингибиторов метилирования ДНК (5-азацитидина, 5-аза-2-дезоксицитидина, зебуларина и др.), которые воздействуют на процессы дифференцировки и дедифференцировки (Jones, Taylor, 1980; Jones, 1984; Heby, 1995; Ikegami et al., 2009; Балан, Озернюк, 2017).

Важные особенности динамики метилирования ДНК установлены для самых ранних этапов индивидуального развития: в период гаметогенеза и на ранних стадиях эмбриогенеза животных. Эти исследования стали началом второго этапа анализа механизмов ДНК-метилирования, осуществляющих регуляцию процессов развития не только на разных стадиях онтогенеза, но и в отдельных типах дифференцирующихся клеток и тканей.

Гаметогенез

Особый интерес представляет изучение метилирования ДНК на предзародышевом этапе онтогенеза (Monk et al., 1987; Heby, 1995; Jirtle, Skinner, 2007; Liu et al., 2007, 2009; Ngu et al., 2008; Ikegami et al., 2009). Уровень и характер ДНК-метилирования существенно меняется на разных стадиях гаметогенеза. Этот вид регуляции детально исследован для периода сперматогенеза. В частности, в мужских половых клетках млекопитающих на самых ранних стадиях сперматогенеза найден продукт гена метилтрансферазы – 5,2 кб мРНК, которая выявляется во всех соматических клетках (Kafri et al., 1992; Heby, 1995). На ранних этапах формирования мужских гамет уровень метилирования ДНК, существовавший в закладках семенников в примордиальных зародышевых клетках, значительно снижается (Monk, 1987; Heby, 1995; Jirtle, Skinner, 2007) (рис. 21).

В растущих мужских половых клетках это снижение начинается в сперматогониях типа А и продолжается до стадии пахитены I-го мейотического деления. В этот период происходят сложные структурные перестройки хроматина в дифференцирующихся половых клетках, которые сопровождаются синтезом минорной фракции гистонов мейотичес-



Рис. 21. Уровень метилирования ДНК на разных этапах гаметогенеза (Monk et al., 1987, с изменениями).

кого типа, дополняющих спектр ядерных белков, свойственных сперматогониям (а также соматическим клеткам). Однако уже в пахитенных сперматоцитах с активным процессом ДНК-метилирования *de novo* происходит значительное увеличение содержания мРНК другого типа ДНК-метилтрансфераз. На более поздних стадиях развития гамет метилирование восстанавливается. Это восстановление, как результат метилирования ДНК *de novo*, происходит в течение дифференцировки половых клеток в семенниках, а также яичниках плода и продолжается в период постнатального гаметогенеза (Monk et al., 1987; Kafri et al., 1992; Heby, 1995; Jirtle, Skinner, 2007; Ikegami et al., 2009).

Динамика метилирования ДНК на разных стадиях сперматогенеза и оогенеза во многом сходная (Monk et al., 1987; Ngu et al., 2008) (рис. 21). Однако уровень метилирования ДНК в зрелых гаметах зависит от пола: в ооцитах он значительно ниже по сравнению со сперматозоидами. Это может означать, что геном яйцеклетки относительно деметилирован, а геном спермия относительно метилирован (Monk et al., 1987; Heby, 1995; Jirtle, Skinner, 2007; Ngu et al., 2008).

Ранние стадии эмбриогенеза

Очевидно, что характер метилирования ДНК, свойственный взрослому организму, формируется на ранних стадиях развития. В зародышах млекопитающих 8-клеточной стадии уровень метилирования определяется соотношением материнской деметилированной и отцовской метилированной ДНК (Monk et al., 1987). В ходе раннего эмбриогенеза млекопитающих от 8-клеточной стадии до морулы и ранней бластулы (предимплантационный период) уровень метилирования ДНК стремительно снижается (Monk et al., 1987; Heby, 1995; Jirtle, Skinner, 2007; Ngu et al., 2008; Ikegami et al., 2009) (рис. 22). В клетках бластоцисты уровень метилирования ниже, чем в зародышах любой другой стадии развития за исключением примордиальных зародышевых клеток (Monk et al., 1987; Heby, 1995). На стадии формирования бластоцисты основная часть ДНК становится деметилированной. Наиболее вероятно, что это снижение – результат деметилирования, но оно может быть обусловлено, как предполагается, недостатком донора метильных групп 5’-аденозилметионина (Heby, 1995). Деметилирование ДНК на данном этапе раннего развития открывает возможность экспрессии генов.

На стадии имплантации поднимается волна ДНК-метилирования *de novo* (Monk et al., 1987; Heby, 1995). Столь значительные изменения уровня и характера метилирования ДНК в данный период связаны с важными особенностями ранних этапов эмбрионального развития млекопитающих, прежде всего, дифференцировкой клеток бластоцисты на наружный слой и внутреннюю клеточную массу, а также последующей имплантацией (рис. 22 стр. 123).

Еще один подход к изучению роли метилирования ДНК в регуляции ранних этапов развития связан с анализом особенностей этого процесса в разных типах клеток и закладок развивающегося эмбриона. В раннем эмбриогенезе млекопитающих первый этап дифференцировки связан с разделением бластоцисты на трофоэктодерму и внутреннюю клеточную массу. Прежде всего, следует отметить, что эти клеточные линии и их производные метилируются независимо и в разной степени (Ngu et al., 2008; Ikegami et al., 2009). Уровень ДНК-метилирования производных экстраэмбриональной клеточной линии (трофоэктодерма, первичная энтодерма, экстраэмбриональная эктодерма, хорион) выше по сравнению с метилированием внутренней клеточной массы. На стадии гаструляции этот процесс достигает уровня, свойственного взрослому организму. Высокий уровень метилирования сохраняется и на постгаструляционных стадиях развития.

Дифференцировка бластоцисты как *in vivo*, так и *in vitro*, связана с активацией генов, контролирующих экспрессию тканеспецифических транскрипционных факторов *Sox-2*, *Cdx-2*, *Eomes* и *Elf-5* (Ngu et al., 2008). Важную регуляторную роль в дифференцировке клеток на этих стадиях играет ген *Elf-5*: он гипометилирован и активно экспрессируется в клетках трофобласта, тогда как в эмбриональных стволовых клетках, полученных из внутренней клеточной массы бластоцисты, он репрессирован с помощью метилирования ДНК. Ген *Elf-5*, благодаря своей способности активировать экспрессию *Cdx-2* и *Eomes,* выполняет на уровне регуляции генной активности функцию детерминации клеток трофобласта. В свою очередь *Elf-5* активируется продуктом этого гена и его рецептором *Fgfr* (Ngu et al., 2008). Таким образом, метилирование/деметилирование гена *Elf-5* обеспечивает решающий этап ранней дифференцировки бластоцисты: разделение на два типа клеток. Данному гену отводится роль «цензора» в определении судьбы трофобласта и клеток внутренней клеточной массы (Ngu et al., 2008).

В полученных из внутренней клеточной массы бластоцисты эмбриональных стволовых клетках экспрессируются гены плюрипотентности *Oct-4* и *Nanog* (Niwa et al., 2000; Harotti et al., 2004, 2007; Ngu et al., 2008; Ikegami et al., 2009). *Oct-4*, принадлежащий к генному семейству POU, содержит CpG-богатые районы и промотор, лишенный TATA-последовательностей. Этот ген экспрессируется в эмбриональных стволовых клетках, но его активность не выявлена в стволовых клетках трофобласта (Niwa et al., 2000; Ngu et al., 2008). В промоторном и энхансерном районах гена *Oct-4* обнаружены тканеспецифические дифференциально метилированные районы (T-DMR), которые в эмбриональных стволовых клетках гипометилированы, а в стволовых клетках трофобласта гиперметилированы (Harotti et al., 2004; Ngu et al., 2008). Тем не менее, авторы пришли к выводу, согласно которому полученные различия меж-

ду трофобластом и клетками внутренней массы клеток связаны с метилированием не столько промоторов генов, сколько последовательностей, локализованных в центромерном хроматине (Ngu et al., 2008).

Сходные регуляторные механизмы метилирования ДНК в эмбриональных стволовых клетках и стволовых клетках трофобласта были выявлены также для гена *Nanog* (Hattori et al., 2004, 2007; Ngu et al., 2008; Ikegami et al., 2009). Этот ген, как и *Oct-4* (Niwa et al., 2000; Ngu et al., 2008), содержит T-DMR, обогащенные CpG-последовательностями. *Nanog* гипометилирован в эмбриональных стволовых клетках и гиперметилирован в стволовых клетках трофобласта.

Динамика ДНК-метилирования, меняющаяся на разных стадиях индивидуального развития, была продемонстрирована также на примере структурных генов (Groudine, Weintraub, 1981; Mavilio et al., 1983). В клетках зародышей человека, синтезирующих гемоглобин, промотор гена эмбриональной формы ε-глобина не метилирован. В аналогичных клетках плода данный промотор метилируется, а затем на смену ему активируется ген фетального γ-глобина, промотор которого также метилирован (Mavilio et al., 1983). На более поздних стадиях развития вместо фетального гемоглобина экспрессируется дефинитивная форма этого белка – β-глобин. Сходная смена экспрессии различных форм глобиновых генов показана также на разных этапах развития куриного зародыша (Groudine, Weintraub, 1981).

Постнатальные этапы развития

Метилирование ДНК *de novo*, начинающееся после гаструляции, продолжается и на более поздних стадиях развития (рис. 22). Для развивающегося плода мыши характерен очень высокий уровень этого процесса (Heby, 1995). В течение последующего развития многие тканеспецифические гены подвергаются программируемому деметилированию в тех или иных типах клеток в соответствии с особенностями эпигенетического контроля на уровне отдельных дифференцировок.

На постнатальных этапах онтогенеза общий уровень метилирования ДНК в различных органах и тканях животных постепенно снижается (Зиньковская и др., 1978; Ванюшин, Романенко, 1979; Ванюшин и др., 1980; Liu et al., 2007, 2009). Двукратное уменьшение уровня метилирования в печени крысы наблюдается в течение первого месяца постнатального развития, а затем этот процесс замедляется, но снижение продолжается в течение последующей жизни животного (до 2 летнего возраста). Скорость данного снижения в эмбриональный период находится в обратной зависимости по отношению к продолжительности беременности у разных видов животных. Темп снижения уровня ДНК-метилирования в различных органах животных отличается (Зиньковская и др., 1978; Ванюшин и др., 1980). Авторы отмечают, что данное сниже-



Рис. 22. Изменение уровня метилирования ДНК на разных стадиях онтогенеза млекопитающих (Monk et al., 1987; Heby, 1995).

ние коррелирует с возрастным уменьшением функциональной активности различных органов животных. Следует отметить при этом, что в тканях взрослых животных метилирование/деметилирование ДНК характеризуется поддержанием существующего статуса: интенсивным метилированием неактивных генов и снижением уровня метилирования для транскрипционно активных генов (Heby, 1995; Niwa et al., 2000; Harotti et al., 2004, 2007; Ngu et al., 2008; Ikegama et al., 2009).

Как уже отмечалось, с возрастом уровень метилирования ДНК уменьшается в различных тканях и органах, в том числе в тканях головного мозга (Зиньковская и др., 1978; Ванюшин, Романенко, 1979; Liu et al., 2007, 2009). Этот показатель снижается в разных отделах головного мозга: больших полушариях, мозжечке, гиппокампе и нейрогипофизе. Динамика снижения совпадает с возрастным уменьшением способностей к обучению и запоминанию (Liu et al., 2007, 2009). В коре головного мозга человека с возрастом происходит гипометилирование промоторов APP (amyloid precursor protein).

Уровень и характер метилирования ДНК изменяется в ходе развития растений: в течение прорастания семян, во время роста, при переходе растений к цветению, а также после их заражения патогенными вирусами и грибами (Vanyushin, 1984; Кирнос и др. 1988а, б; Jacobsen, Meyerowitz, 1997; Soppe et al., 2000; Ванюшин, 2004). Следует отметить, что особенности экспрессии генов у аллополиплоидов и диплоидов связаны с ДНК-метилированием (Gao et al., 2011).

Трансдифференцировка

Процессы дифференцировки принято считать необратимыми в нормальных условиях развития, однако в определенных ситуациях возмож-

на трансдифференцировка клеток и тканей. Сама возможность трансдифференцировки свидетельствует об обратимости дифференцировки, что рассматривается как следствие репрограммирования генома (репрессии транскрибирующихся и реактивации молчащих генов). Очевидно, что выяснение механизмов трансдифференцировки относится к числу важнейших фундаментальных проблем. Вместе с тем, направленное получение определенных типов клеток перспективно для последующего использования в практике.

Трансдифференцировка происходит как *in vivo* (например, в тканях глаза при повреждениях) (Stone, 1950; Миташов, 2007; Chiba, Mitashov, 1997; Grigoryan, 2012; Григорян, 2015), так и в культурах клеток различных типов (Jones, Taylor, 1980; Jones, 1984; Heby, 1995; Hattori et al., 2004, 2007; Grinnell et al., 2007; Zhou et al., 2008; Racila et al., 2010 Vierbuchen et al., 2010), что дает возможность экспериментального изучения данной проблемы. В частности, на модели глаза взрослого тритона в условиях *in vivo* было показано, что ретинальный пигментный эпителий после травмы превращается в ходе регенерации в нейроны и глиальные клетки сетчатки с последующим формированием функционирующей сетчатки (Stone, 1950; Chiba, Mitashov, 1997; Grigoryan, 2012).

Проблема трансдифференцировки интенсивно изучается на клеточных культурах. Показано, что трансдифференцировку можно стимулировать при помощи технологий индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК). Впервые эту возможность показал С. Яманака со своими коллегами (Takahashi, Yamanaka, 2006; Takahashi, et al., 2007). Было установлено, что интеграция в геном дифференцированных клеток определенных генов индуцирует формирование плюрипотентных стволовых клеток. В частности, интеграция в геном фибробластов мыши и человека генов *Oct-4, Sox-2, Klf-4* и *c-Myc* при помощи лентивирусных векторов приводит к индуцированной плюрипотентности стволовых клеток. Подобный результат можно получить без использования ДНК-векторов, доставив в клетки белки, кодируемые этими генами, а также путем трансфекции синтезированных *in vitro* мРНК траскрипционных факторов, которые кодируются генами *Lin-28, Nanog, Oct-4* и *Sox-2* (Yakubov et al., 2010).

Впоследствии была осуществлена прямая трансдифференцировка одного типа клеток в другой, минуя стадию получения плюрипотентных стволовых клеток (Grinnell et al., 2007; Zhou et al., 2008; Racila et al., 2010 Vierbuchen et al., 2010). В частности, удалось получить трансдифференцировку *in vivo* зрелых экзокринных клеток поджелудочной железы в β-подобные клетки при использовании аденовирусной трансфекции генов *Ngn-3, Pdx-1* и *Mafa* (Zhou et al., 2008). Трансфекция гена *Oct-4* или его кратковременная экспрессия приводили к трансдифференцировке кератиноцитов мыши или человека в нейральном или мезенхимальном на-

правлениях (Grinnell et al., 2007; Racila et al., 2010). При инфицировании культуры фибробластов ретровирусами, несущими гены *Ascl1, Brn2, Myf1l,* формировались нейроны, которые обладали функциональной активностью (Vierbuchen et al., 2010).

Другой подход к анализу трансдифференцировки, основанный на эпигенетических механизмах, открыл новые возможности для исследований регуляции данного процесса. Оказалось, что трансдифференцировку можно стимулировать также различными химическими соединениями: 5-азацитидином, 5-аза-2-дезоксицитидином, зебуларином и др. (Jones, Taylor, 1980; Jones, 1984; Heby, 1995; Hattori et al., 2004, 2007). Эти соединения являются ингибиторами метилирования ДНК. Будучи аналогами нуклеозидов, они включаются в ДНК делящихся клеток и взаимодействуют с ДНК-метилтрансферазами. В результате этого образуются промежуточные продукты, которые ингибируют метилирование ДНК. Таким образом, уровень ДНК-метилирования влияет на процессы трансдифференцировки клеток, в основе которых лежит репрограммирование их генома.

Один из подходов к анализу роли метилирования ДНК в трансдифференцировке связан с изучением влияния ингибиторов данного процесса на эмбриональные стволовые клетки и стволовые клетки трофобласта (Hattori et al., 2004, 2007). Эти две клеточные линии отличаются не только характером экспрессии тех или иных генов, прежде всего, генов плюрипотентности (*Oct-4* и *Nanog*) (Niwa et al., 2000; Hattori et al., 2004, 2007; Ngu et al., 2008), но и своими производными – определенными типами формирующихся из них тканей. Воздействие 5-аза-2-дезоксицитидина на эти клеточные линии приводит к изменению профиля экспрессии генов *Oct-4* и *Nanog*, а также дифференцировке данных типов клеток (Hattori et al., 2004). В частности, *Oct-4* экспрессируется в эмбриональных стволовых клетках, но в стволовых клетках трофобласта его активность не выявляется. Однако 5-аза-2-дезоксицитидин вызывает активацию этого гена в стволовых клетках трофобласта. Сходный эффект активации определенных генов вызывает также трихостатин А - ингибитор гистоновой деацетилазы 1 (Hattori et al., 2004).

В этих исследованиях было показано также, что гипометилирование ДНК, вызванное 5-аза-2-дезоксицитидином, может индуцировать дифференцировку эмбриональных стволовых клеток в трофобласт и его производные (Hattori et al., 2004, 2007; Ngu et al., 2008; Ikegami et al., 2009). В частности, снижение или выключение экспрессии *Oct-4* при определенных условиях индуцирует трансдифференцировку эмбриональных стволовых клеток в трофобластные клетки (Niwa et al., 2000; Ngu et al., 2008). Авторы рассматривают эти работы как модель трансдифференцировки, однако поскольку эмбриональные стволовые клетки не дифференцированы, то формирование из них трофобласта трудно считать транс-

дифференцировкой. Тем не менее, уровень метилирования ДНК, как и модификации гистонов, влияют на дифференцировку клеток, связанную с репрограммированием генома.

В нашей работе был использован еще один ингибитор ДНК-метилирования – 5-азацитидин (Балан, Озернюк, 2017). Данный ингибитор в присутствии дексаметазона вызывает в культуре сателлитных клеток скелетных мышц крысы экспрессию маркерных генов кардиомиоцитарной дифференцировки. Это гены начальных этапов дифференцировки кардиомиоцитов *Gata4, Nkx2.5,* гены межклеточных контактов *коннексин-43, н-кадгерин,* а также ген *Cacna1c*, который кодирует синтез одной из субъединиц кальциевых каналов L-типа, характерных для кардиомиоцитов. Активация экспрессии этих генов отмечена уже на 7-е сутки культивирования сателлитных клеток, выделенных из фетальных мышц, или на 14-е сутки, если клетки брали из мышечной ткани половозрелых животных (Балан, Озернюк, 2017).

Активацию маркерных генов не следует рассматривать как трансдифференцировку. Речь может идти только о начальных этапах этого процесса. Требуется анализ физиологических критериев трансдифференцировки, а также превращение клеточного фенотипа при действии ингибиторов. Таким образом, очевидно, что дифференцированное состояние клеток поддерживается за счет определенного уровня метилирования ДНК. Для репрограммирования генома клеток необходимо «снятие запрета» на экспрессию генов с определенной части генома, которое осуществляется при помощи ингибирования ДНК-метилирования.

Следует отметить, что помимо ингибиторов метилирования ДНК трансдифференцировку могут вызвать также ингибиторы гистонацетилаз – ферментов модифицирующих гистоны, в частности, вальпроевая кислота (2-пропилвалериановая кислота). Таким образом, трансдифференцировка клеток зависит от состояния структуры хроматина.

Метелирование ДНК и паталогические процессы

Уровень и характер метилирования ДНК, будучи регулятором многих метаболических процессов в организме, меняется при различных заболеваниях. Нарушения ДНК-метилирования выявлены в злокачественных опухолях, при диабете 2-го типа, неврологических, психоневрологических, нейродегенеративных заболеваниях и некоторых других патологиях.

Канцерогенез. Особенности метилирования ДНК в опухолевых и нормальных клетках отличаются. Уровень ДНК-метилирования снижается при развитии злокачественных новообразований (Esteller, 2007; Cooney, 1999; Daura-Oller et al., 2009). Метилирование отдельных генов коррелирует с уровнем их экспрессии и развитием опухолей (Daura-Oller et al., 2009; Логинов и др., 2009; Dmitriev et al., 2012). Так, уровень метилиро-

вания ДНК в клетках крови коров, больных лимфолейкозом, ниже по сравнению с нормальными клетками, тогда как в палиндромных последовательностях ДНК картина метилирования противоположная (Cooney, 1999). Показана корреляция между уровнем метилирования промоторной области гена *RASSF1A* и прогрессией светлоклеточного рака почки (Логинов и др., 2009). При изучении транскрипции потенциального онкогена *RHOA* в эпителиальных опухолях молочной железы, почки и яичников установлено, что нарушение регуляции происходит за счет увеличения копий этого гена, а также в результате деметилирования его промоторной области (Брага и др. 2006).

У трансгенных мышей с активированным геном ДНК-метилазы человека, приводящим к суперэкспрессии генов, развиваются злокачественные опухоли. Вместе с тем, при снижении уровня метилирования ДНК у животных, в рационе которых отсутствует метионин – источник метильных групп, также развиваются опухоли. Таким образом, для нормального функционирования клетки необходим определенный сбалансированный уровень метилирования ДНК (Daura-Oller et al., 2009; Dmitriev et al., 2012).

В последнее время в изучении проблем канцерогенеза были получены важные результаты в отношении механизмов взаимодействия метилирования ДНК и злокачественного перерождения, а также новые подходы в проблеме терапии. Известно, что в развитии опухолей существенным этапом служит предварительное гипометилирование ДНК, за которым следует подавление экспрессии генов-супрессоров опухолевого роста (Daura-Oller et al., 2009; Логинов и др., 2009; Dmitriev et al., 2012). При подавлении активности этих генов в результате метилирования их промоторных областей возобновление их экспрессии достигается путем ингибирования ДНК-метилтрансфераз. Одним из таких ингибиторов является 5-азадезоксицитидин (децитабин) – нуклеозидный аналог цитозина. Однако децитабин эффективен только при встраивании в клеточный геном, что может приводить к мутациям в дочерних клетках; кроме того, этот препарат токсичен. Поэтому перспективным считается использование «антисмысловых» РНК, приводящее к деградации мРНК метилтрансферазы 1 и, следовательно, блокированию трансляции.

Результаты экспериментов с влиянием ингибиторов метилирования ДНК послужили основой концепции «эпигенетической терапии», включающей также воздействие ингибиторов модификации гистонов (Egger et al., 2004). Эти ингибиторы были успешно использованы для лечения злокачественных гематологических заболеваний, в частности, предлейкемического состояния – миелоидного диспластического синдрома.

Другие патологические состояния. Процессы метилирования ДНК нарушаются не только при канцерогенезе, но и при многих других заболеваниях, в частности, при нейропатиях и нейродегенеративных заболеваниях. Речь идет прежде всего о мутациях генов, кодирующих ДНК-

метилтрансферазы и метилCpG-связывающие белки (MeCP2), которые участвуют в специфической регуляции экспрессии генов (Jacobsen, Meyerowitz, 1997; Berdasco, Esteller, 2013). В частности, Rett-синдром связан с мутацией гена *MeCP2*, также как и синдром Ангельмана. Нарушение метилирования ДНК, вызванное мутацией гена ДНК-метилтрансферазы *DNMT1*, отмечено при синдроме HSAN1 (hereditary sensory and autonomic neuropathy type 1), а мутация в гене еще одной метилтрансферазы (DNMT3b) выявлена при синдроме ICF1 (immunodeficiency-centromeric instability-facial anomalies syndrome 1) (Berdasco, Esteller, 2013; Li et al., 2013). Уровень ДНК-метилирования изменяется при таких патологических состояниях как синдромы Прадера-Вилли, Ангельмана, Беквита-Видельмана, Сильвера Рассела, синдром Ретта, Facial-синдром 1, Rubinstein-Taybi-синдром, а также при нейродегенеративных заболеваниях, диабете 2-го типа и др. (Hagberg et al., 1983; Pollwein et al., 1992; Liu, 2003, 2007; Rogaev et al., 1994; Berdasco, Esteller, 2013; Li et al., 2013).

Rett-синдром, известное психоневрологическое наследственное заболевание (Hagberg et al., 1983), служащее примером комбинированных генетических и эпигенетических нарушений нервной системы, связано с дефектом гена *MeCP2*, который локализован в X-хромосоме. Поэтому данное заболевание встречается преимущественно у женщин. Примерно у 70–90 % пациентов этот синдром связан с метилированием гена *MeCP2*, белковый продукт которого служит посредником в сайленсинге генов при помощи метилирования ДНК (Bienvenu, Chelly, 2006; Berdasco, Esteller, 2013; Li et al., 2013). В норме белок MeCP2 на определенной стадии развития мозга участвует в выключении нескольких других генов и в результате этого мозг ребенка развивается нормально. Однако при мутации гена *MeCP2* его своевременное выключение не происходит, что приводит к нарушению развития мозга. Было показано, что при активации гена *MeCP2* мышей синдром Ретта у них исчезал.

Процессы метилирования ДНК играют существенную роль в развитии нейродегенеративных заболеваний. В частности, болезнь Альцгеймера связана, как известно, с мутациями гена *пресенилина* и гена *APP*, который кодирует белок-предшественник амилоидов APP. У трансгенных мышей оверэкспрессия *APP* приводит к отложению амилоидов в нейронах и ухудшению когнитивных функций на поздних стадиях онтогенеза (Liu, 2003, 2007). Было установлено, что в промоторе *APP* две последовательности, обогащенные динуклеотидами GC, регулируют транскрипционную активность этого гена (Pollwein et al., 1992). Получены также тканеспецифические паттерны метилирования ДНК для *APP*-промоторов, что коррелирует с изменяющимся уровнем их экспрессии в различных тканях человека, включая мозг (Rogaev et al., 1994). В коре головного мозга у пациентов с болезнью Альцгеймера отмечено гипометилирование *APP*-промоторов.

Общее увеличение уровня метилирования ДНК отмечено при алкоголизме, что взаимосвязано с гиперметилированием промоторов гена *б-synuclein* – важного регулятора функций дофаминов и привыкания к алкоголю (Bonsch et al., 2005). При моделировании стресса было показано, что степень заботы о потомстве у крыс в ранний период развития может быть связана с метилированием промотора гена, кодирующего синтез глюкокортикоидного рецептора (*GR*) (Weaver et al., 2005).

Таким образом, метилирование и деметилирование ДНК служит одним из эффективных механизмов регуляции состояния ДНК, которое отражается на таких процессах как репликация, репарация, а также транскрипция. Как уже отмечалось, уровень ДНК-метилирования существенно изменяется на разных стадиях развития, когда меняется характер экспрессии генов, а также при различных функциональных и патологических состояниях организма. Данный вид энзиматической модификации ДНК можно считать важнейшим механизмом долговременной эпигенетической регуляции активности генов.

МОДИФИКАЦИИ ГИСТОНОВ

Посттрансляционные модификации гистонов служат важнейшим механизмом эпигенетического контроля многих биологических процессов, регуляция которых сопровождается изменением уровня и характера генной экспрессии (Jenuwein, Allis, 2001; Bernstein et al., 2002; Strahl, Allis, 2000; Fischle et al., 2003; Margueron et al., 2005; Коряков, 2006; Kouzarides, 2007; Krebs, 2007; Ikegami et al., 2009; Осипов и др. 2010). Модификации гистонов играют существенную роль и в регуляции различных этапов индивидуального развития (Корочкин, 2002; Ikegami et al., 2009). Эти виды контроля осуществляются обычно через изменение структуры хроматина (его компактизацию/декомпактизацию), что приводит к изменению уровня и характера экспрессии генов.

Следует отметить, что к процессам, в регуляции которых принимают участие посттрансляционные модификации гистонов, относится необычайно широкий круг явлений: от изменения экспрессии генов и регуляции клеточной дифференцировки до механизмов обучения и формирования памяти, старения, канцерогенеза и других патологий (Bernstein et al., 2002; Fischle et al., 2003; Margueron et al., 2005; Levenson et al., 2004; Карпов, 2005; Ikegami et al., 2009; Roth, Sweatt, 2009; Шевченко и др., 2009) (табл. 5).

Гистоны, обнаруженные в 1884 г. немецким биохимиком А. Косселем, относятся к наиболее консервативным (по первичной структуре) белкам и служат основными белковыми компонентами нуклеосом. Из пяти основных типов гистонов H1, H2A, H2B, H3 и H4 в формировании нуклеосомного ядра, на которое наматывается ДНК, принимают учас-

Таблица 5.
Влияние различных типов модификации гистонов на внутриклеточные процессы

Метилирование	Ацетилирование	Фосфорилирование	Убиквитинирование
Транскрипция Инактивация X-хромосомы РНК-интерференция	Транскрипция Инактивация X-хромосомы Сборка нуклеосом Клеточный цикл	Инициация транскрипции Синтез белков теплового шока Клеточный цикл	Транскрипция Репарация ДНК Экспрессия топоизомеразы Динамика теломер Деградация белков с участием протеасом Клеточный цикл Инактивация X-хромосомы

тие два тетрамера $H3_2$-$H4_2$ и два димера H2A-H2B, формируя гистоновый октамер – серцевину нуклеосомы. Молекула любого из гистонов состоит из центрального структурированного трехспирального домена и неструктурированного N-концевого участка, так называемого хвоста, который как раз подвергается модификации при помощи соответствующих ферментов. Гистоновые хвосты, как было показано при помощи рентгеноструктурного анализа, выходят на поверхность нуклеосомы. Особенно далеко на поверхность этой структуры выходит гистон H3. Эти «хвосты» подвергаются модификациям и участвуют в межнуклеосомных взаимодействиях. Гистоновые «хвосты» составляют до 30% от массы отдельных молекул гистонов (Осипов и др., 2010). Постсинтетическим модификациям подвергаются N-концевые хвостовые участки гистонов H2A, H2B, H3 и H4. Обнаружено более 60 аминокислотных остатков гистонов, претерпевающих модификации (Bernstein et al., 2002; Коряков, 2006; Krebs, 2007; Ikegami et al., 2009).

Модификации гистонов вызывают изменения физических свойств нуклеосом. Ацетилирование гистонов нейтрализует их положительный заряд, ослабляя их взаимодействие с ДНК, а изомеризация пролинов гистонов влияет на конформацию полипептидной цепи. Данные модификации участвуют в регуляции состояния хроматина. В частности, диметилированный лизин 4 гистона H3 и ацетилированный лизин 9 этого же гистона служат маркерами транскрипционно активного хроматина (Bernstein et al., 2002; Lachner et al., 2003).

Ключевое звено в эпигенетической регуляции с участием модификации гистонов – распознавание модифицированных аминокислотных остатков белками, которые содержат специфические домены – регуляторы транскрипции. Это бромодомены, узнающие ацетилированные лизиновые аминокислотные остатки, и хромодомены, распознающие метилированные остатки. Полученные данные о регуляторных особенностях модифицированных гистонов послужили основой создания концепции «гистонового кода» (Jenuwein, Allis, 2001; Strahl, Allis, 2002;

Margueron et al., 2005). «Гистоновый код» как универсальная система регуляции функционирования хроматина включает разные типы модификации гистонов, которые взаимодействуют между собой на разных иерархических уровнях (Fischle et al., 2003; Margueron et al., 2005).

Как отмечалось выше, модификации гистонов, прежде всего, ацетилирование, изменяет заряд гистоновых «хвостов», что приводит к ослаблению их взаимодействия с ДНК и изменению степени их гидрофобности. Следствием реакций ацетилирования/деацетилирования гистонов служит разрыхление или уплотнение хроматина, что изменяет доступность ДНК для регуляторных факторов. В частности, модификации гистонов, приводящие к разрыхлению нуклеосом, увеличивают доступность РНК-полимеразы и транскрипционных факторов к ДНК. Следует отметить, что ацетилированные гистоны располагаются в нуклеосоме обычно в зоне промоторов определенных генов. Таким образом, данный механизм эпигенетического контроля регулирует экспрессию генов посредством активации транскрипции.

Модификации гистонов включают ацетилирование, метилирование, фосфорилирование, убиквитинирование, АТР-рибозилирование, дезиминирование, изомеризацию пролинов и др. (Nielsen et al., 2002; Margueron et al., 2005; Коряков, 2006; Kouzarides, 2007; Krebs, 2007; Ikegami et al., 2009). Ацетилирование, метилирование и фосфорилирование гистонов осуществляется ацетилтрансферазами, метилтрансферазами и протеинкиназами соответственно. Степень этих модификаций гистонов определяется в каждом случае соотношением активности прямой и обратной ферментативных реакций. Примером может служить соотношение активностей двух ферментов, участвующих в ацетилировании гистонов: ацетилтрансферазы и деацетилазы. Модификации гистонов отличаются по своей стабильности и продолжительности. Некоторые модификации бывают относительно стабильными (метилирование), а другие – лабильными (ацетилирование). Последние функционируют в тех случаях, когда речь идет о регуляции периодических или кратковременных процессов (Mermoud et al., 2002; Nielsen et al., 2002; Margueron et al., 2005; Kouzarides, 2007).

Метилирование

Важным компонентом эпигенетического контроля внутриклеточных процессов служит метилирование гистонов. С этой модификацией связана регуляция элонгации транскрипции, в частности, ее репрессия, инактивация Х-хромосомы, РНК-интерференция и др. Метилирование гистонов осуществляется при помощи лизиновых и аргининовых метилтрансфераз, содержащих каталитический SET-домен (Mermoud et al., 2002; Margueron et al., 2005; Коряков, 2006; Кленов и др., 2007; Ikegami et al., 2009). Протяженность этого домена составляет 130 аминокислотных

остатков. Согласно положению данного домена в молекуле фермента, метилтрансферазы разделены на четыре семейства. В гистонах разных организмов метилирование известно для 17 остатков лизина, несущих от одной до трех метильных групп, а также для 7 аргининовых остатков, которые несут одну или две метильные группы (Margueron et al., 2005). Удаление метильных групп осуществляется гистон-деметилазами. В геноме человека содержится 73 потенциальных деметилазы, у дрозофилы выявлено 40 потенциальных форм этого фермента.

Метилированные аминокислотные остатки распознаются особыми белками, содержащими специфические регуляторы транскрипции – хромодомены. Эти домены, имеющие протяженность около 50 аминокислотных остатков, формируют три β-складки и одну α-спираль, а само узнавание метильных групп осуществляется тремя ароматическими кольцами, образующими карман (Nielsen et al., 2002; Margueron et al., 2005).

Роль этого вида модификации гистонов в эпигенетической регуляции детально изучена на примере метилирования гистона H3K9. У млекопитающих обнаружено пять форм H3K9-метилтрансфераз, которые содержат SET-домен, отвечающий за активность метилирования лизинов в гистоне 3 (Ikegami et al., 2009). Метилирование гистонов H3K9 и H3K27 участвует в инактивации X-хромосомы, поддерживая ее неактивное состояние (Mermoud et al., 2002; Коряков, 2006).

Еще один пример касается роли метилирования гистонов в РНК-интерференции. Было показано, что метилирование лизина 9 гистона 3 (H3K9) вовлечено в систему РНК-сайленсинга с участием rasiРНК (Кленов и др., 2007). Следует отметить, что метилирование гистонов играет также существенную роль при элонгации транскрипции. В частности, у дрожжей и у курицы этот процесс связан с метилированием H3K26. С другой стороны, метилирование остатков аргинина участвует в репрессии транскрипции (Margueron et al., 2005).

Ацетилирование

Этот вид модификации гистонов участвует в регуляции таких процессов как транскрипция, компенсация дозы гена, сборка нуклеосом, клеточный цикл, формирование памяти и др. (Agalioti et al., 2002; Levenson et al., 2004; Pokholoe et al., 2005; Коряков, 2006). По данным разных авторов в гистонах обнаружено от 13 до 16 сайтов ацетилирования (Mermoud et al., 2002; Turner, 2002; de Ruijter et al., 2003; Margueron et al., 2005; Kouzarides, 2007).

Ацетилирование осуществляется гистон-ацетилтрансферазами и данная реакция очень лабильна (Roth et al., 2001). Обнаружены ядерная (тип А) и цитоплазматическая (тип В) формы этого фермента. Реакция деацетилирования катализируется гистон-деацетилазами, и у многих из них обнаружен большой каталитический домен протяженностью около 390

аминокислот (Finnin et al., 1999; Roth et al., 2001; de Ruijter et al., 2003; Kouzarides, 2007).

Узнавание ацетилированных остатков лизина осуществляется специфическими белками, содержащими бромодомены протяженностью около 110 аминокислотных остатков. В бромодомене имеется пять α-спиралей: четыре длинных и одна короткая. Этот домен содержит гидрофобный канал с заряженной областью для взаимодействия с ацетильной группой (Zeng, Zhou, 2002).

Ацетилирование вовлечено в регуляцию инициации транскрипции у дрожжей и у человека. Для инициации этого процесса необходимо ацетилирование H3K9, H3K14, а также гистона H4 (Agalioti et al., 2002; Kouzarides, 2007). Гипоацетилирование гистонов принимает участие в инициации инактивации X-хромосомы (Okamoto et al., 2004). Уровень ацетилирования гистонов в гиппокампе меняется при формировании памяти (Levenson et al., 2004). Важной регуляторной особенностью ферментов ацетилирования/деацетилирования гистонов является их взаимодействие с метилированием ДНК. Таким образом, это взаимодействие служит регулятором транскрипционной активности хроматина.

Фосфорилирование

Фосфорилирование белков, как известно, вовлечено в регуляцию множества метаболических, клеточных и физиологических процессов. Этот вид модификации белков, установленный также для всех гистонов, характеризуется значительной лабильностью, что дает возможность осуществлять тонкую регуляцию различных внутриклеточных процессов: инициации транскрипции, регуляции клеточного цикла, активации синтеза белков теплового шока и др. (Hsu et al., 2000; Hans, Dimitrov, 2001; Soloaga et al., 2003; Nowak, Corces, 2004; Ahn et al., 2005; Коряков, 2006).

Уровень фосфорилирования гистонов определяется соотношением активности протеинфосфокиназ и фосфатаз. В свою очередь, соотношение процессов фосфорилирования и дефосфорилирования, оказывает регулирующее воздействие на степень компактизации/декомпактизации хроматина – основного эпигенетического механизма контроля экспрессии генов (Hans, Dimitrov, 2001; Nowak, Corces, 2004; Ahn et al., 2005). На примере клеточного цикла было показано, что фосфорилирование гистона H3 регулируется киназами Ip11/Aurora и фосфатазами Glc/PP1 (Hsu et al., 2000). При активации транскрипции перенос фосфатных групп на гистон H3 осуществляется киназами RSK2, MSK1 и MSK2 (Soloaga et al., 2003).

Характер фосфорилирования гистонов зависит от внешних воздействий. Так, тепловой шок приводит к полному перераспределению сайтов фосфорилирования гистона H3 на политенных хромосомах личинок дрозофилы. После воздействия теплового шока устанавливается новый паттерн фосфорилирования (Soloaga et al., 2003).

Убиквитинирование

Убиквитинирование как один из механизмов регуляции функций белков осуществляется в результате присоединения к ним полипептида убиквитина, что приводит к активации этих белков или стимулирует их протеасомную деградацию. Убиквитинирование оказывает регулирующее воздействие на танскрипционные факторы, репарацию ДНК, инактивацию Х-хромосомы, экспрессию топоизомеразы, динамику теломер, регуляцию клеточного цикла и др. (Hershko, Ciechonover, 1998; Henry et al., 2003; Wang et al., 2004a; Коряков, 2006).

Убиквитинирование гистонов, открытое раньше других модификаций этих белков, реализуется за счет присоединения к ним убиквитина, состоящего из 76 аминокислотных остатков (Goldknopf et al., 1975; Hershko, Ciechonover, 1998). Убиквитин взаимодействует лишь с несколькими сайтами в гистонах Н2А и Н2В, которые, в отличие от большинства других гистоновых модификаций, расположены на С-концах молекул данных белков (Hershko, Ciechonover, 1998).

Реакции убиквитинирования/деубиквитинирования катализируются убиквитин-лигазами и протеазами соответственно (Hershko, Ciechonover, 1998). Наиболее детально исследовано убиквитинирование лизина. Активность и экспрессия убиквитин-лигаз снижается с возрастом; в связи с этим предполагается, что данный фермент связан с процессами старения. Примерами этого вида модификации гистонов служит убиквитинирование гистона Н2А в положении К119, а также Н2В – в положении К120/К1123 (Goldknopf, Busch, 1977; Thorne et al. 1987; Hershko, Ciechonover, 1998; Robzyk et al., 2000; Henry et al., 2003; Wang et al., 2004).

Убиквитинирование гистонов участвует в регуляции транскрипции. Для активации транскрипции необходимо присоединение убиквитина к гистону Н2ВК123 в промоторной области (Henry et al., 2003). Убиквитинирование гистона Н2А, осуществляющееся при помощи убиквитин-лигазного комплекса Е3, участвует в сайленсинге комплекса Polycomb у дрозофилы (Wang et al., 2004). Данный вид модификации гистонов участвует также в инактивации Х-хромосомы на завершающих стадиях этого процесса. В данном случае убиквитинированию подвергается гистон Н2А с помощью убиквитин-лигазы Ring1A/1B (Okamoto et al., 2004).

Взаимодействие метилирования гистонов и метилирования ДНК

При изучении механизмов ДНК-метилирования было установлено, что участки ДНК, подвергающиеся метилированию, служат метками для взаимодействия с белками, которые связываются с гистоновыми ацетилазами, контролируя, таким образом, локализацию транскрипционной активности хроматина (Henry et al., 1999; Pokholok et al., 2005; Ikegami et al., 2009). Эти данные послужили основой для нового направления ис-

следований эпигенетической регуляции: взаимосвязи метилирования гистонов и метилирования ДНК.

Оказалось, что связь между данными процессами двусторонняя (Tamaru, Selker, 2001; Tarig et al., 2003; Ikegami et al., 2009; Berdasco, Esteller, 2013). В частности, установлено, что мутации ДНК-метилтрансферазы1 приводят к потере метилирования гистона H3K9 в гетерохроматиновых районах, включая транспозоны (Tarig et al., 2003). Выключение гена ДНК-метилтрансферазы 1 при помощи siРНК вызывает снижение уровня метилирования гистонов H3K9me1, H3K9me2, H3K9me3 в рибосомальной ДНК. С другой стороны, у гриба *Neurospora crassa* мутация в гене *dim5*, который кодирует метилтрансферазу гистона H3K9, приводит к нарушению не только метилирования гистонов, но и метилирования ДНК (Tamaru, Selker, 2001).

Таким образом, взаимодействие метилирования гистонов и метилирования ДНК создает дополнительные возможности более тонкой и согласованной регуляции экспрессии генов и других процессов, которые контролируются эпигенетическими механизмами.

Модификации гистонов и патологические состояния

Известно, что многие патологические состояния связаны с мутациями генов, кодирующих белки, которые вызывают модификации гистонов. Прежде всего, это ферменты, модифицирующие гистоны, а также белки, содержащие бромодомены, которые связываются с ацетилированными аминокислотными остатками (Berdasco, Esteller, 2013; Li et al., 2013). В связи с этим было введено понятие «мутации в эпигенетических генах» (Berdasco, Esteller, 2013).

Мутации в гистоновых генах приводят в итоге к нарушениям в развитии детей, уродствам, психоневрологическим расстройствам, умственной отсталости и другим серьезным патологиям. В частности, синдром Rubinstein-Taybi 1 связан с мутацией гена *CREBBP*, который локализован в хромосоме 16P13.3; синдром Beckwitt-Wiedelmann - с мутацией *NSD1* в хромосоме 5q35.2; Kabuki-синдром - с мутацией *MLL2* в хромосоме 12q13.12; синдром Kleefstra – с мутацией *EHMT1* в хромосоме 9q34.3 (Berdasco, Esteller, 2013; Li et al., 2013).

Механизмы развития этих заболеваний часто связаны с белками, содержащими бромодомены, которые специфически связываются с ацетилированными лизиновыми остатками в N-концевых последовательностях гистонов *in vitro* и *in vivo* (Li et al., 2013; Berdasco, Esteller, 2013). Мутации генов, кодирующих бромодомен-содержащие белки, приводят к развитию Fragile X-синдрома, Williams-синдрома, Rett-синдрома, Rubinstein-Taybi-синдрома и др.

Таким образом, модификации гистонов, как и другие механизмы эпигенетического контроля, связаны с развитием патологические состояний,

обусловленных нарушениями «эпигенетических генов». Этот новый интенсивно развивающийся раздел молекулярной медицины дает возможность глубже понять тонкие механизмы патологических нарушений.

КОРОТКИЕ РНК И РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

Подавление экспрессии генов – широко распространенное явление, имеющее важнейшее значение для регуляции процессов жизнедеятельности, в том числе индивидуального развития, прежде всего, его ранних этапов: гаметогенеза, эмбриогенеза, а также дифференцировки различных тканей и органов. Этот вид контроля реализуется в клетке при помощи нескольких механизмов. Важная роль в подавлении экспрессии генов принадлежит коротким РНК длиной 21–25 нуклеотидов (Fire et al., 1998; Montgomery, Fire, 1998; Hammond et al., 2000, 2001; Elbashir, 2001; Аравин и др., 2002; Гвоздев и др., 2003; Чуриков, Кретова, 2003; Кленов, Гвоздев, 2005; Bhattacharyya et al., 2006; Чуриков и др. 2006; Кленов и др., 2007). Подавление экспрессии осуществляется при помощи двух типов коротких РНК: микроРНК (miРНК) (Bartel, Bartel, 2003) и малых интерферирующих РНК (siРНК) (Fire et al., 1998; Montgomery, Fire, 1998; Elbashir, 2001; Plasterk, 2002; Гвоздев, 2003; Bartel, Bartel, 2003; Bartel, 2004; Кленов и др. 2007).

МикроРНК (miРНК)

Важным этапом в изучении регуляторной роли коротких РНК было обнаружение нескольких типов одноцепочечных микроРНК (21-23 нуклеотида) в клетках разных видов растений, животных и человека. Последующее изучение функций этих РНК показало, что в большинстве случаев они репрессируют трансляцию за счет комплементарного связывания с мРНК (Lagos-Quintana et al., 2001; Lau et al., 2001; Lee, Ambros, 2001; Аравин и др., 2002; Bartel, Bartel, 2003; Bartel, 2004; Кленов, Гвоздев, 2005; Кленов и др., 2007).

МикроРНК принимают участие в регуляции процессов развития: формировании осей полярности, дифференцировке тканей на ранних стадиях развития животных, в частности, контроле скорости роста и дифференцировки, в образовании формы листьев у растений, и многих других онтогенетических процессов. Этот тип РНК также является компонентом регуляции экспрессии транскрипционных факторов, контролирующих апоптоз (Bartel, Bartel, 2003; Bartel, 2004; Bartel, 2004; Кленов и др., 2007). Недавно было показано участие miРНК в репрограммировании соматических клеток человека для получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSC) с широкими возможностями дифференцировки в различных направлениях (Kelley, Lin, 2012).

Этот тип РНК образуется из более длинных РНК, способных формировать двуцепочечные шпильки, которые подвергаются процессингу (Bartel, 2004). Гены miРНК локализованы между другими генами или могут быть частью последовательности интронов других генов. В ходе их транскрипции образуются pri-miРНК (primary miRNA), размер которых составляет до 1000 нуклеотидов и последовательность, содержащая комплементарные участки, складывается в шпильку (Bartel, 2004; Кленов и др. 2007). Эта шпилька вырезается при помощи эндорибонуклеазы Drosha с образованием pri-miРНК размером 70 нуклеотидов и выходит в цитоплазму. На последующих этапах процессинга miРНК нарезаются эндонуклеазой Dicer из кодируемых РНК-предшественников. Данный вид РНК взаимодействуют с 3'-нетранслируемой областью РНК-мишени, образуя частично комплементарные дуплексы, подавляющие трансляцию мРНК (Hutvagner, Zamore, 2002; Bartel, Bartel, 2003; Bartel, 2004; Кленов и др. 2007). Следует отметить, что miРНК растений обычно полностью комплементарны своим РНК-мишеням и вызывают, как и siРНК, деградацию мРНК.

Как отмечалось выше, miРНК можно использовать для репрограммирования соматических клеток и получения индуцированных плюрипотентных клеток (iPSC) (Kelley, Lin, 2012). Для этой цели авторы использовали miРНК miR-302. Общее число генов, служащих мишенями miR-302 – более 600. Многие из них вовлечены в дифференцировку, и функционирование сигнальных путей во время развития. Кроме того, miR-302 вызывает репрограммирование опухолевых клеток человека в нормальные клетки, подобные стволовым.

Предполагается, что появление miРНК в процессе эволюции многоклеточных организмов привело к возникновению новой регуляторной системы, решающая роль в которой принадлежит некодирующим РНК (Кленов и др., 2007).

РНК-интерференция

Открытие механизма эпигенетической регуляции биологических процессов при помощи РНК-интерференции, вызывающей подавление экспрессии генов двуцепочечными РНК положило начало новому этапу в развитии эпигенетики. Данный механизм, называемый ген-специфическим сайленсингом, не повреждает ген, как в случае его «нокаута», а вызывает изменение его регуляции (Fire et al., 1998; Montgomery, Fire, 1998; Elbashir, 2001; Plasterk et al., 2002; Richards, Elgin, 2002; Кленов, Гвоздев, 2005; Buhler et al., 2006; Чуриков и др., 2006; Кленов и др., 2007; Алембеков и др., 2009). Явление РНК-интерференции открыто американскими учеными Э. Файером (A. Fire) и К Мэллоу (C. Mello), а в 2006 г. за эти исследования им была присуждена Нобелевская премия.

В первой работе на эту тему, выполненной на нематоде *Caenorhabditis elegans*, было показано, что наличие незначительных количеств анти-

смысловой РНК в препаратах синтезированной *in vitro* смысловой РНК приводило к образованию небольших количеств двуцепочечной (дц)РНК, которая вызывала мощное подавление экспрессии гомологичного ей гена (Fire et al., 1998). Сходный эффект вызывала инъекция в клетки антисмысловой или смысловой (контрольной) РНК, совпадающей с мРНК по последовательности (Plasterk, 2002). В этой работе при более тщательном анализе было показано, что данный эффект вызван не антисмысловой или смысловой РНК, а примесями двуцепочечной РНК, которая присутствовала в обоих препаратах. Наиболее выраженный эффект подавления генной экспрессии наблюдался при инъекции нематодам только двуцепочечной РНК (Plasterk, 2002).

Впоследствии было установлено, что этот тип регуляции распространен чрезвычайно широко: он обнаружен у растений, грибов, простейших, кишечнополостных, планарий, нематод, рыб, млекопитающих, в том числе человека (Depicker, Van Montagu, 1997; Elbashir et al., 2001; Аравин и др. 2002; Гвоздев, 2003; Чуриков, Кретова, 2003; Чуриков и др. 2006; Кленов и др. 2007; Алембеков и др., 2009).

Двуцепочечные (дц)РНК – это РНК-шпильки, состоящие из двух спаренных комплементарных цепей РНК, которые нарезаются в клетке на короткие фрагменты (siРНК) размером 21–23 н.п. Эти РНК внедряются в эффекторный комплекс RISC (RNA-induced silencing complex) (Hammond et al., 2000, 2001). Процесс нарезания осуществляется при помощи фермента Dicer – ключевого белка процессинга miРНК и siРНК. siРНК формируют комплекс с белком AGO (Argonaute) и этот агрегат (RISC) выполняет регуляторные функции: одна из цепей siРНК в комплексе с белком AGO (рибонуклеаза типа III) находит в клетке комплементарные молекулы мРНК, которые расщепляются этим белком, что приводит к ее деградации и остановке трансляции мРНК (Fire et al., 1998; Hammond et al., 2000, 2001; Plasterk, 2002). Еще один путь подавления экспрессии генов с участием siРНК – взаимодействие с комплементарным участком ДНК в ядре.

siРНК оказывает каталитическое действие в очень низких концентрациях. Инъекция этой РНК нематоде *C. elegans* даже в ничтожных концентрациях вызывала подавление экспрессии гомологичного гена. Расчеты показали, что эффективные концентрации в данных экспериментах составляли несколько молекул siРНК на клетку (Plasterk, 2002). Особый вид siРНК – rasiРНК (repeat associated siRNA) участвует, как предполагается (Richards, Elgin, 2002; Buhler et al., 2006), в модификации гистонов (метилирования лизина 9 в гистоне 3), взаимодействуя с соответствующими белковыми комплексами сайленсинга.

РНК-интерференция участвует в регуляции многих внутриклеточных процессов. Предполагается, что этот регуляторный механизм противодействует РНК-содержащим вирусам, которые на определенных стади-

ях образуют молекулы двуцепочечных РНК. Кроме того, РНК-интерференция подавляет активность мобильных генетических элементов, которые вызывают мутации (в том числе хромосомные перестройки). Этот вывод базируется на данных, согласно которым за транскрипцией мобильных генетических элементов следует образование молекул двуцепочечных РНК. РНК-интерференция участвует также в регуляции процессов развития.

Поскольку РНК-интерференция служит мощным природным механизмом защиты клетки от чужеродных РНК, этот вид эпигенетического контроля называют также древним иммунитетом, который функционирует на уровне молекул РНК (Гвоздев, 2003; Кленов и др., 2007).

Роль коротких РНК и РНК-интерференции в регуляции онтогенетических процессов

Короткие РНК, в частности rasiРНК, принимают участие в регуляции процессов развития (Aravin et al., 2001; Аравин и др., 2002, 2007; Extavour, Akam, 2003; Чуриков, Кретова, 2003; Кленов и др., 2007). Известно, что активация и подвижность мобильных элементов, сопровождающиеся мутациями и хромосомными перестройками, представляют потенциальную опасность в клетках зародышевого пути. Предполагается, что в подавлении экспрессии мобильных элементов в герминативных клетках дрозофилы могут участвовать rasiРНК. На морфологическом уровне система РНК-сайленсинга в этих клетках представлена перинуклеарными и полярными гранулами (Extavour, Akam, 2003; Findley et al., 2003; Кленов и др., 2007).

Перинуклеарные и полярные гранулы найдены в герминативных клетках самок и самцов. У дрозофилы в этих клетках описаны рибонуклеопротеиновые структуры: перинуклеарные и полярные гранулы, содержащие белки РНК-интерференции и созревания miРНК (Extavour, Akam, 2003). Впервые эти гранулы были выявлены И.И. Мечниковым в герминативных клетках насекомых. Позднее данные структуры обнаружили у нематод и млекопитающих. Нарушение формирования этих гранул приводит к стерильности особей. Перинуклеарные и полярные гранулы содержат компоненты РНК-сайленсинга. Это белки Vasa, Tudor, Valois и Aubergine, являющиеся РНК-хеликазой, РНК-связывающим белком, а также белком сем. Argonaute.

В состав перинуклеарных гранул входят специфические белки Maelstrom и Gustavus. Последний взаимодействует с РНК-хеликазой Vasa, а белок Maelstrom принимает участие в процессинге Vasa (Findley et al., 2003). В формировании полярных гранул на заднем полюсе ооцитов дрозофилы решающая роль принадлежит, как предполагается, РНК-связывающему белку Oscar. Формообразующая роль этого белка сводится, прежде всего, к взаимодействию с белками Vasa. Мутации в генах, регу-

лирующих формирование перинуклеарных гранул (*aub, maelstrom, spn-E*), вызывают преждевременную эктопическую трансляцию мРНК *Oscar* в передней (а не в задней, как в норме) части ооцитов, что приводит к радикальным нарушениям развития зародышей (Findley et al., 2003).

Во время развития дрозофилы и нематоды вскоре после оплодотворения происходит смещение материнских полярных гранул в примордиальные герминативные клетки, которые определяют последующие этапы формирования этих клеток (Extavour, Akman, 2003; Кленов и др., 2007). У нематоды *C. elegans* в предшественниках герминативных клеток Р-бластомерах образуются Р-гранулы, служащие маркерами герминативной плазмы (Kawasaki et al., 1998). Эти гранулы, как и обнаруженные позднее Р-тельца в соматических клетках, связаны с наружной поверхностью ядерной оболочки. Р-гранулы при формировании бластомеров смещаются в результате асимметричных делений в клетки-предшественники зародышевого пути, тогда как бластомеры, дающие начало клеткам соматических тканей, не содержат этих гранул. РНК-интерференция у *C. elegans* связана с Р-гранулами: в соматических клетках происходит образование характерных для герминативных клеток Р-гранул на фоне значительного усиления РНК-интерференции, вызванной мутациями (Wang et al., 2005). Эти мутации приводят к экспрессии в соматических клетках определенных генов, характерных для герминативных клеток.

Было установлено, что у млекопитающих появление перинуклеарных и полярных гранул в предшественниках герминативных клеток происходит значительно позднее, чем у *C. elegans* и дрозофилы, и зависит от формирования соответствующих сигнальных путей (Extavour, Akam, 2003; Wang et al., 2005).

Для понимания роли перинуклеарных и полярных гранул важное значение имеет анализ их формирования. В ходе оогенеза и оплодотворения эти гранулы претерпевают сложные превращения. В растущие ооциты дрозофилы они поступают из питающих клеток. На заднем полюсе ооцитов поздних стадий оогенеза образуются полярные гранулы. После оплодотворения содержащий эти гранулы участок герминативной плазмы индуцирует в данной зоне развивающегося эмбриона формирование полярных гранул в клетках-предшественниках будущих герминативных тканей. На более поздних стадиях развития полярные гранулы исчезают и в примордиальных герминативных клетках появляются перинуклеарные гранулы, принимающие участие в формировании электронно-плотного облака вокруг ядра (nuage). Полярные и перинуклеарные гранулы, а также электронно-плотное облако nuage локализованы в области ядерных пор. Это наблюдение дает основание предполагать, что данные структуры участвуют в образовании и перестройке рибонуклеопротеиновых комплексов во время их транспорта из ядра в цитоплазму (Findley et al., 2003).

Следует отметить, что перинуклеарные гранулы выявлены также в мужских герминативных клетках дрозофилы (Kotaja et al., 2006). Эти гранулы сохраняются в ходе сперматогенеза до стадии сперматоцита. У мышей в мужских герминативных клетках обнаружены хроматоидные тельца, подобные облаку nuage в ооцитах. Хроматоидные тельца формируют перинуклеарные структуры, которые связаны с РНК-сайленсингом (Kotaja et al., 2006). В этих тельцах выявлены белки Ago, Dicer, а также микроРНК. Хроматоидные тельца, как предполагается, участвуют в функционировании микроРНК. Таким образом, перинуклеарные и полярные гранулы – структуры, характерные для герминативных клеток, и содержащие белки РНК-интерференции и созревания miРНК, участвуют в регуляции экспрессии генов на ранних этапах индивидуального развития.

РНК-интерференция оказывает влияние на сперматогенез и плодовитость самцов дрозофилы (Aravin et al., 2001; Аравин и др., 2002). В семенниках *D. melanogaster* выявлена экспрессия кластеров тандемно повторяющихся генов, которые обеспечивают плодовитость самцов. В частности, в Х-хромосоме самцов обнаружены тандемные повторы генов *Stellate.* Экспрессия продукта этого гена – белка, гомологичного регуляторной субъединице протеинкиназы CKII, в итоге вызывает нарушения мейоза, что приводит к стерильности самцов. Следует отметить, что данный эффект проявляется в случае делеции повторов *Su*(*Ste*) (Supressor of *Stellate*) в Y-хромосоме. Очевидно, что для нормального протекания сперматогенеза необходимо подавление экспрессии генов *Stellate.* В работах лаборатории В.А. Гвоздева (Aravin et al., 2001; Аравин и др., 2002) было показано, что супрессия повторов *Stellate* может быть связана с РНК-интерференцией – образованием дцРНК *Su*(*Ste*), которая вызывает подавление экспрессии *Stellate*, как предполагается, на посттранскрипционном уровне. В опытах на культуре клеток дрозофилы была показана супрессия гена *Stellate* при помощи дцРНК *Su*(*Ste*), что в итоге предотвращает стерильность и обеспечивает нормальную плодовитость самцов.

С участием РНК-интерференции регулируется экспрессия генов, которые определяют время развития тех или иных структур и закладок нематоды *C. elegans* (Lee et al., 1993; Reinhart et al., 2000; Аравин и др., 2002). Известно, что этими генами (*let-7* и *lin-4*) определяется нормальное развитие стволовых клеток гиподермы. В частности, в результате мутации в гене *lin-4* стволовые клетки совершают лишние деления, что приводит к образованию дополнительных клеток гиподермы, нарушениям ее формирования и последующей летальности. Мутации в гене *let-7* связаны с неограниченным делением стволовых клеток у взрослых особей, что приводит к аномалиям формирования кутикулы и матки с последующей гибелью этих особей. Транскрипты генов *let-7* и *lin-4* под-

вергаются процессингу с образованием коротких РНК размером 22 нуклеотида (Lee et al., 1993; Reinhart et al., 2000; Аравин и д0р., 2002). Эти РНК, получившие название stРНК (small temporal RNA) сходны с siРНК не только по размерам, но и по особенностям процессинга: они образуются при участии белков типа DICER, которые узнают двуцепочечные участки РНК. Было показано, что мутация в гена *dcr* нематоды, гомологе гена *dicer* у дрозофилы, препятствуют РНК-интерференции, нарушая процессинг предшественников stРНК, что сопровождается аномалиями развития. Из этих данных следует, что белок DCR-1, который принимает участие в РНК-интерференции, необходим для регуляции развития стволовых клеток гиподермы у *C. elegans.*

Следует отметить, что, несмотря на сходство процессинга предшественников siРНК и stРНК, механизмы их регуляторного действия существенно отличаются. Если действие siРНК приводит к деградации гомологичной последовательности нуклеотидов одноцепочечной РНК, то stРНК, взаимодействуя комплементарно с районом 3'-НТР, подавляет трансляцию мРНК (Аравин и др., 2002).

Анализируя роль siРНК в регуляции процессов онтогенеза, следует отметить еще один подход, связанный с изучением экспрессии ретроэлементов в ходе развития. В лаборатории Н.А. Чурикова было показано, что паттерн транскрипции коротких ретроэлементов дрозофилы (*суффикс* и *F*-элемент) изменяется в процессе развития (Чуриков, Кретова, 2003). *Суффикс*-специфические siРНК выявляются на одних стадиях развития (стадия куколки) и отсутствуют на других.

РНК-интерференция в герминативных тканях дрозофилы может участвовать в еще одном процессе – поддержании длины теломер. У дрозофилы теломеры формируются, в отличие от большинства эукариот (в том числе млекопитающих, сохраняющих теломеразную активность), путем концевого присоединения ретротранспозонов типа LINE (Pardue, DeBaryshe, 1999). Еще одна возможная функция РНК-интерференции в герминативных тканях связана с подавлением перемещений транспозонов, служащих источником мутагенных воздействий на геном. Эти воздействия представляют потенциальную опасность как раз для герминативных тканей (Aravin et al., 2001; Аравин и др., 2002; Кленов и др., 2007).

РНК-интерференциия имеет важное значение в индивидуальном развитии растений. В частности, у *Arabidopsis* данный вид эпигенетической регуляции играет существенную роль в развитии верхушечных меристем побега и герминальных тканей (Bohmert et al., 1998). Мутации генов *AGO1* и *DCL1* у *Arabidopsis*, участвующих в созревании малых РНК, приводят к гибели зародышей на ранних стадиях развития.

РНК-интерференция и подавление экспрессии мобильных генетических элементов

РНК-сайленсинг с участием коротких РНК и РНК-интерференции играет существенную роль в подавлении экспрессии мобильных генетических элементов (Cox et al., 1998; Aravin et al., 2001; Гвоздев, 2003; Kogan et al., 2003; Cook et al., 2004; Кленов и др., 2007). Мутации ряда генов, принимающих участие в регуляции РНК-сайленсинга, приводят к дерепрессии мобильных элементов: накоплению транскриптов этих генов (Кленов и др., 2007). Речь идет о мутациях генов *spn-E* и *aub*, а также генов *armitage* и *piwi.* Подробнее результаты этих исследований описаны в разделе «Супрессия транспозонов».

В связи с анализом особенностей сайленсинга транспозонов В.А. Гвоздев с коллегами предполагает, что механизм РНК-интерференции появился в процессе эволюции как способ борьбы с вирусной инфекцией или с вредными для генома мобильными элементами (Гвоздев, 2003; Кленов и др., 2007). Таким образом, постулированный механизм защиты генома имеет важное эволюционное значение для его стабилизации.

РНК-интерференция и патологические состояния

Поскольку регуляторный потенциал РНК-интерференции необычайно широкий, проводятся исследования возможности использования этого вида эпигенетического контроля для терапии многих заболеваний: нейродегенеративных, сердечно-сосудистых, онкологических, эндокринных, а также для борьбы с вирусами иммунодефицита и гепатита С.

В настоящее время искусственная РНК-интерференция используется для сайленсинга генов ВИЧ-1 (Push et al., 2003; Ye et al., 2005; Чуриков и др., 2006 Алембеков и др., 2009). А.Н. Чуриков с коллегами создал генетические конструкции, экспрессирующие siРНК, которые вызывают сайленсинг генов ВИЧ-1 (Чуриков и др., 2006). Для анализа были выбраны три наиболее консервативные области генома ВИЧ-1, которые кодируют домены протеазы, обратной транскриптазы и область Tat. Искусственную РНК-интерференцию вызывали при помощи «коротких шпилечных» генетических конструкций, содержащих палиндромные последовательности, которые формируют шпильки. Такие двуцепочечные РНК при помощи фермента Dicer разрезаются на siРНК. Антисмысловая цепь siРНК остается в белковом комплексе RISC. Нуклеотидная последовательность siРНК в составе RISC находит в цитоплазматической РНК зараженной клетки комплементарный участок в ВИЧ-1-вирусных транскриптах и разрезает его. siРНК, комплементарная домену обратной транскриптазы, подавляла продукцию вируса в клетках лимфобластомы на 91–98% через 72 ч после введения конструкции (Чуриков и др., 2006). Авторы этого исследования считают, что

разработанный подход может быть использован также для генотерапии СПИДа.

Насколько широко распространена регуляция внутриклеточных процессов при помощи коротких РНК? Потенциально около трети всех мРНК человека могут служить мишенями коротких РНК (Гвоздев, 2003; Чуриков, Кретова, 2003; Кленов и др., 2007). Поэтому перечень процессов и реакций, которые регулируются этими РНК, достаточно длинный.

Следует отметить, что в настоящее время РНК-интерференция стала важным инструментом для изучения функций генов. Очевидно, что специфическое подавление функций тех или иных генов служит эффективным инструментом для изучения регуляции генной экспрессии в норме и при различных патологических состояниях (Ye et al., 2005; Чуриков и др., 2006 Алембеков и др., 2009). Для этой цели используются дцРНК или короткие РНК, синтезированные *in vitro*, или транскрибирующиеся с встроенными в геном конструкциями. Попав в клетку, такие РНК вызывают сайленсинг определенных генов. Этот подход используется как на культурах клеток, так и на живых организмах.

ИНАКТИВАЦИЯ Х-ХРОМОСОМЫ

В процессе эволюции половых хромосом у животных сформировался механизм компенсации дозы генов, локализованных на Х-хромосоме, у представителей мужского и женского полов. Дозовая компенсация достигается за счет инактивации одной Х-хромосомы у самок, в результате чего у особей обоих полов только одна копия генов этой хромосомы является транскрипционно активной. Как следствие, и у самцов и у самок в клетках синтезируется примерно равное количество продуктов генов, сцепленных с Х-хромосомой.

У разных животных дозовая компенсация осуществляется посредством разных механизмов, однако во всех случаях компенсационный эффект достигается обычно за счет регуляции структуры хроматина. В частности, у дрозофилы это двукратное усиление транскрипции генов, расположенных на Х-хромосоме самцов. На этой хромосоме выявлены MSL-белки, которые взаимодействуют с Х-хромосомой, что приводит к изменению структуры хроматина и последующему усилению генной экспрессии.

Представление о том, что дозовая компенсация обеспечивается различиями структурно-функциональной организации половых хромосом у самцов и самок, демонстрируется на примере одиночной Х-хромосомы слюнных желез самцов дрозофилы. Эта хромосома по толщине примерно такая же как две Х-хромосомы самок за счет сильно разрыхленной структуры. Компенсация дозы генов у дрозофилы на биохимическом уровне иллюстрируется на примере активности 6-фосфоглюконат-

дегидрогеназы – фермента углеводного обмена, который кодируется геном *Pgd,* локализованным на Х-хромосоме. В экспериментах Л.И. Корочкина была выявлена прямая зависимость между активностью этого фермента и дозой гена (Корочкин, 2002).

Дозовая компенсация у самок нематод происходит в результате избирательного снижения уровня экспрессии генов, локализованных на обеих Х-хромосомах. Этот эффект достигается в результате взаимодействия белка DPY27 с Х-хромосомами, вследствие чего происходит конденсация данного участка хромосомы. В результате этого происходит снижение уровня транскрипции.

Следует отметить, что вариабельность дозовой компенсации генов, локализованных на половых хромосомах, характерна и для птиц (Deakin et al., 2009). У этих животных половая хромосома Z содержит часть генов, характерных для Х-хромосомы однопроходных млекопитающих. В геноме утконоса на хромосоме Х5 обнаружен протяженный участок, гомологичный Z-хромосоме курицы.

Компенсация дозы генов у разных групп млекопитающих имеет свои особенности. У представителей отряда однопроходных (Monotermata), к которому относятся утконосы и ехидны, механизм компенсации отличается по сравнению с другими млекопитающими. Прежде всего, у самцов утконоса *Ornithorhychus onatinus* обнаружено пять Х- и пять Y-хромосом, а у самцов ехидны *Tachuglossus aculeatus* выявлено пять Х- и четыре Y-хромосомы (Deakin et al., 2009; Шевченко и др., 2013). Оказалось, что гены, расположенные на Х-хромосомах сумчатых и плацентарных млекопитающих, у однопроходных локализованы на аутосомах. Было показано, что некоторые гены в Х-хромосомах самок и самцов утконоса проявляют как полную, так и частичную компенсацию дозы, а для других генов дозовая компенсация отсутствует. Таким образом, однопроходным свойственна вариабельность компенсации дозы генов.

У большинства других млекопитающих компенсация дозы происходит за счет полной инактивации большей части генов, локализованных на одной из Х-хромосом самок (Brown et al., 1991; Norris et al., 1994; Clemson et al., 1996; Mermoud et al., 2002; Шевченко и др., 2006, 2013; Гилберт, 2010). Следует отметить, что у млекопитающих Y-хромосома содержит всего несколько десятков генов, тогда как Х-хромосома – около тысячи генов. На цитологическом уровне у самок млекопитающих инактивация одной из Х-хромосом достигается за счет ее гетерохроматизации и формирования компактной гетеропикнотической глыбки - полового хроматина (телец Барра) (Корочкин, 2002; Шевченко и др., 2013).

У сумчатых и плацентарных млекопитающих механизмы инактивации Х-хромосомы, обладая чертами фундаментального сходства, имеют ряд отличий, которые касаются некодирующих ядерных РНК, участвующих в инактивации данной хромосомы. У сумчатых млекопитающих эти РНК –

продукт гена *Rsx*, тогда как у плацентарных – продукт гена *Xist* (*X inactive specific transcript*). Эта замена генов сопровождается полной и стабильной инактивацией Х-хромосомы, что связано в значительной степени с появлением на ней *Xist*-зависимых модифицированных гистонов и метилированием ДНК в промоторах (Шевченко и др., 2006, 2013). *Xist*-РНК – некодирующая ядерная РНК размером примерно 16 т.н. Ген *Xist* в одном из экзонов содержит эволюционно консервативные А-повторы, отвечающие за инактивацию транскрипции; делеция этих повторов приводит к утрате способности *Xist*-РНК инактивировать транскрипцию генов, сцепленных с Х-хромосомой (Wutz et al., 2002). Ген *Xist* локализован в центре инактивации Х-хромосомы, где происходит синтез транскрипта этого гена. *Xist*-РНК взаимодействует с Х-хромосомой и подавляет экспрессию локализованных на ней генов (Brown et al., 1991). Эта РНК остается в ядрах и взаимодействует с хроматином неактивной Х-хромосомы.

Состояние инактивации Х-хромосомы закрепляется метилированием соответствующих участков ДНК (Norris et al., 1994), а также последующей модификацией гистонов: гипоацетилированием гистона H3 по лизину K9, гипометилированием гистона H3 по лизину K4, триметилированием гистона H3 по лизину 27, а также моноубиквитинированием гистона H2A по лизину 27 (Clemson et al., 1996; Mermoud et al., 2002; Шевченко и др., 2006, 2013).

Процесс инактивации состоит из нескольких этапов (Clemson et al., 1996). На первом этапе инактивация Х-хромосомы инициируется геном *Xist*. Затем происходит распространение гетерохроматизации по всей длине этой хромосомы. Во время инактивации продукт гена *Xist* – нетранслируемая РНК, покрывает Х-хромосому, что приводит к ее конденсации и последующей инактивации. На заключительной стадии поддержание неактивного состояния Х-хромосомы в процессе последующих клеточных делений обеспечивается, как отмечалось выше, за счет эпигенетических механизмов: метилирования ДНК, а также метилирования и убиквитинирования гистонов. Следует отметить, что в ходе инактивации гиперметилирование ДНК в Х-хромосоме самок – один из самых поздних типов модификации, который появляется только в соматических клетках эмбриона уже после отделения линии герминативных клеток (Clemson et al., 1996; Шевченко и др., 2006).

Таким образом, инактивация Х-хромосомы включает различные регуляторные механизмы: образование РНК *Xist*, формирование комплекса РНК *Xist* – тельце Бара, гипоацетилирование гистона H4, метилирование гистона H3, убиквитинирование гистона H2, метилирование промоторов, ассоциация с ядерной оболочкой, поздняя репликация, гетерохроматинизация.

Для понимания механизмов инактивации Х-хромосомы важен вопрос о том, на какой стадии развития происходит этот процесс. Было показа-

но, что в ооцитах и в оплодотворенных яйцеклетках млекопитающих функционируют обе X-хромосомы. Процесс инактивации этой хромосомы во время эмбриогенеза был детально исследован А.И. Шевченко и его коллегами (Шевченко и др. 2006). Инактивация одной из двух X-хромосом самок млекопитающих начинается в раннем эмбриогенезе. Уже на стадии двух бластомеров транскрипт гена *Xist* у мыши выявляется на X-хромосоме, унаследованной от самца. На стадии 8 бластомеров в части клеток отмечено ингибирование транскрипции генов, локализованных рядом с центром инактивации. Данный процесс совпадает с началом гипометилирования гистона H3K4 и гипоацетилирования H3K9. Уже к 32-клеточной стадии более 90% бластомеров содержат X-хромосому с этими модификациями (Okamoto et al., 2004).

Со стадии морулы с инактивируемой X-хромосомой связываются белки Polycomb комплекса PRC2, которые контролируют метилирование гистона H3K27 на X-хромосоме самок. После имплантации происходит метилирование гистона H2A1, а впоследствии на стадии бластоцисты – гистона H3K9 (Okamoto et al., 2004). На данном этапе к процессу инактивации подключается механизм убиквитинирования гистона H2A1 по лизину K119 при помощи убиквитин-лигазы Ring 1A/1B в составе белкового комплекса Polycomb PRC 1 (de Napoles et al. 2004; Okamoto et al., 2004).

На стадии средней бластоцисты, когда уже произошла дифференцировка на трофоэктодерму и внутреннюю клеточную массу, во всех клетках X-хромосома, унаследованная от самца, содержит все модификации, характерные для неактивного хроматина (Okamoto et al., 2004; Шевченко и др., 2006). Однако степень инактивации зависит от расстояния до центра инактивации: полная инактивация отмечена для генов, расположенных в непосредственной близости от центра. Таким образом, на стадии, предшествующей имплантации, об инактивации этой хромосомы можно говорить как об импринтированной, неполной и обратимой.

Впоследствии состояние неактивной X-хромосомы в трофоэктодерме и внутренней клеточной массе бластоцисты приобретает различия: в трофоэктодерме приобретенный ранее уровень экспрессии генов и модификации гистонов сохраняется, тогда как во внутренней клеточной массе бластоцисты начинается реактивация X-хромосомы, выражающаяся в утрате связи между Polycomb-белковым комплексом PRC2 и снижением уровня метилирования гистонов H3K27 и H3K9 (Okamoto et al., 2004).

В процессе имплантации в клетках собственно эмбриона снова происходит инактивация, но теперь обе X-хромосомы имеют одинаковые шансы стать импринтированными. В инициации инактивации участвует транскрипт гена *Xist*, а впоследствии происходит модификация гистонов: гипоацетилирование H3K9, гипометилирование H3K4, метилирование H3K27 и P3K20, а также убиквитинирование гистона H2A при участии убиквитин-лигазы Ring 1A/1B (Okamoto et al., 2004).

На более поздних стадиях, когда отделяется линия герминативных клеток, в соматических клетках происходит гиперметилирование Х-хромосомы, унаследованной от самки. После этих событий неактивное состояние данной хромосомы становится необратимым и наследуется при делении клеток. Следует отметить, что большинство генов в этой хромосоме в соматических клетках неактивны, за исключением *Xist* и некоторых других генов, имеющих функциональные гомологи на Y-хромосоме (Carrel, Willard, 2005).

Таким образом, инактивация Х-хромосомы у самок связана с несколькими эпигенетическими процессами, ответственными за формирование и поддержание неактивного состояния хроматина. Некоторые из них – известные, участвующие в других процессах, связанных с инактивацией хроматина (метилирование ДНК, модификации гистонов, в частности, убиквитинирование), тогда как другие эпигенетические механизмы специфичные для инактивации Х-хромосомы (Шевченко и др., 2006). Это, прежде всего, некодирующие РНК гена *Xist*, частичная замена гистона Н2А на его вариант Н2А1 и убиквитинирование этих гистонов.

ГЕНОМНЫЙ ИМПРИНТИНГ

Фенотипическое проявление одного и того же гена у самцов и самок может отличаться. Это означает, что определенный ген в организме представителя одного пола репрессирован, а у представителя другого пола он экспрессируется. Термин «геномный импринтинг» впервые использовал Х. Кроуз в 1960 г. для описания избирательной элиминации хромосом у самцов насекомых. Этот вид эпигенетической регуляции, помимо насекомых (Lloyd 2000), встречается у плацентарных и сумчатых млекопитающих, а также у рыб (McGowan, Martin, 1997) и растений (Baroux et al., 2002).

С геномным импринтингом связано такое общебиологическое явление как запрет на партеногенетическое и андрогенетическое развитие у млекопитающих (Платонов, Исаев, 2006). Геномный импринтинг рассматривается также в качестве механизма защиты от ретровирусных инфекций (Bartolomei, Tilghman, 1997; Конюхов, Платонов, 2001; Исаев и др. 2005; Платонов, Исаев, 2006).

Импринтированные гены оказывают влияние на рост, развитие и жизнеспособность организмов. Экспрессия этих генов может быть ткане- и стадиоспецифичной. Импринтированные гены, составляя небольшую часть генома млекопитающих, играют важную роль в развитии нервной системы и формировании висцеральных структур. Поэтому нарушения экспрессии этих генов в результате мутаций или стабильных эпигенетических модификаций в соматических клетках животных могут привести к различным нарушениям развития (Конюхов, Платонов, 2001; Исаев и др. 2005; Платонов, Исаев, 2006). Следует отметить, что при клонирова-

нии животных происходит нарушение геномного импринтинга. Поэтому при клонировании для нормального развития соматических клеток следует учитывать их эпигенетическое программирование (Solter, 2000; Платонов, Исаев, 2006).

Появление импринтированных генов – результат сайленсинга, связанного, прежде всего, с двумя видами эпигенетического контроля: метилированием ДНК и посттрансляционной модификацией гистонов (Surani, 1998; Конюхов, Платонов, 2001; Weinhold, 2006, Платонов, Исаев, 2006). Импринтирование генов связано с ДНК-метилированием цитозина в CpG-динуклеотидах, которые формируют скопления (островки) в дифференциально метилированных районах. Часто такие гены формируют кластеры на хромосомах – импринтированные домены.

В изучении механизмов и биологической роли данного вида эпигенетической регуляции важное значение имеет его модуляция. Модуляция эффектов геномного импринтинга может приводить к частичной коррекции фенотипа при патологическом генотипе (Бочков, 2001; Penkov et al., 2001; Исаев и др., 2005; Платонов, Исаев, 2006). К числу таких модуляторов относятся полипептидные ростовые факторы цитокины II-й группы, играющие ключевую роль в регуляции раннего эмбриогенеза млекопитающих (Coulier et al., 1997). Среди них особая роль отводится инсулиноподобному фактору роста 2 (IGF2), регулирующему эмбриональный рост (Robertson, 1995), а также трансформирующему фактору роста α (TGFα), который стимулирует эмбриональный рост и контролирует развитие производных трофобласта: плаценты и внезародышевых оболочек (Lysiak et al., 1993).

На модели партеногенетических эмбрионов мышей, у которых снижен или отсутствует синтез IGF2 в материнских хромосомах, наблюдается торможение роста эмбрионов и их последующая гибель на ранних стадиях развития. При введении таким эмбрионам IGF2 или активации гена, кодирующего этот ростовой фактор, наблюдалось заметное улучшение развития эмбрионов (Penkov et al., 2001). Аналогичные результаты были получены ранее при воздействии TGFα на партеногенетические эмбрионы мыши (Lysiak et al., 1993).

Важный вклад в анализ геномного импринтинга на начальных этапах онтогенеза внесли исследования, в которых было прослежено развитие зародышей мыши с двумя гомологичными хромосомами от одного родителя (однородительская дисомия) материнского и отцовского происхождения. Однородительская дисомия, в зависимости от стадии мейоза, на которой отмечено нерасхождение хромосом, подразделяется на гетеродисомию (нерасхождение в I-м мейотическом делении) и изодисомию (нерасхождение во II-м мейотическом делении). Однородительская дисомия по некоторым хромосомам у человека приводит к наследственным заболеваниям (Falls et al., 1999; Sleutels et al., 2002; Платонов, Исаев, 2006).

У мышей проявление импринтинга по тем или иным хромосомам меняется от эмбриональной летальности на ранних стадиях развития до нарушений в поведении животных на последующих этапах онтогенеза. У таких животных обнаружено шесть хромосом, обусловливающих 15 типов фенотипических проявлений импринтинга (самое частое проявление – эмбриональная гибель в первой половине беременности) (Исаев и др., 2005; Платонов, Исаев, 2006). У человека уже выявлено несколько десятков импринтированных генов и их транскриптов. Они локализованы в 1, 5, 6, 7, 13, 19, 20 хромосомах. Следует отметить, что особенностью импринтированных генов в геноме млекопитающих служит их кластерная организация (Falls et al., 1999; Исаев и др., 2005; Платонов, Исаев, 2006).

Для понимания механизмов геномного импринтинга необходим анализ структурных изменений хромосом. Важные результаты в этом направлении были получены при изучении наследственных заболеваний. Такие наследственные патологии как хорея Хантингтона, синдром Прадера-Вилли, синдром Ангельмана, синдром Видельмана-Беквита, синдром Рассела-Сильвера и другие заболевания связаны с геномным импринтингом (Falls et al., 1999; Исаев и др., 2005; Платонов, Исаев, 2006). Установлено, в частности, что синдром Прадера-Вилли связан с делецией семи генов, локализованных в 15-й отцовской хромосоме (15q11-13), а синдром Ангельмана – с делецией в 15-й материнской хромосоме.

Синдром Прадера-Вилли впервые был описан в 1956 г. А. Прадером, Г. Вилли и коллегами. Этот синдром проявляется в умственной отсталости, гипотонии, ожирении, низком росте, акромикрии, гипогонадизме. Синдром Ангельмана – комплекс врожденных психических расстройств, выражающихся в умственной отсталости, припадках, атаксии, нарушениях речи, параксизмальном смехе и др. Очевидно, что возникновение столь серьезных наследственных заболеваний свидетельствует о важной роли геномного импринтинга в регуляции физиологического состояния организма (Falls et al., 1999; Исаев и др., 2005; Платонов, Исаев, 2006).

В отношении общебиологического значения геномного импринтинга существуют несколько гипотез. Одна из них (получившая название «защитной») базируется на представлениях о том, что между матерью и плодом формируются отчасти антагонистические взаимоотношения: плод «пытается» получить от материнского организма больше питательных веществ для своего роста, а мать старается сохранить свои метаболические ресурсы для возможности родить других детенышей (Wolf, Hager, 2006). Вследствие этого в сперматозоидах самцов импринтируются гены, способствующие защите организма матери от чрезмерных потребностей плода в ресурсах материнского организма, тогда как в организме матери импринтированными становятся гены, которые могли бы усилить зависимость матери от потребностей плода.

Рассматривается также другая гипотеза, в соответствии с которой, роль геномного импринтинга состоит в достижении более гармоничной совместимости матери и плода. Эта гипотеза предполагает, что при импринтировании некоторых отцовских генов у плода будут функционировать в основном их материнские копии, т.е. мать и плод на метаболическом уровне будут более приспособлены друг к другу (Wolf, Hager, 2006). Подтверждением этой гипотезы служат факты, в соответствии с которыми в период внутриутробного развития гены отца импринтируются в большей степени.

Таким образом, с общебиологической точки зрения эпигенетический контроль размножения и развития млекопитающих через механизмы геномного импринтинга формирует более гармоничное и надежное протекание внутриутробного развития этих животных, что обеспечивает дополнительную стабильность процессов онтогенеза в ряду поколений (Wolf, Hager, 2006).

ЭФФЕКТ ПОЛОЖЕНИЯ ГЕНА

Фенотипическое проявление гена в зависимости от положения в геноме (от соседних генов) было открыто А. Стертевантом в 1925 г. и названо эффектом положения. Стертевант установил, что когда у дрозофилы в результате неравного кроссинговера оба мутантных аллеля гена *Bar* оказались в одной хромосоме, экспрессия мутантного фенотипа существенно отличалась по сравнению с контролем, когда данные аллели находились в разных гомологичных хромосомах. Впоследствии Г. Меллер обнаружил мозаичный эффект положения генов в экспериментах по индукции хромосомных перестроек облучением (см. Жимулев, 2002).

Важный вклад в в понимание механизма действия генов в зависимости от их положения в хромосоме внесли в свое время Н.П. Дубинин и Б.Н. Сидоров (1934), показавшие ослабление доминирования нормального аллеля гена *ci* (*cubitus interruptus*) у дрозофилы при его перенесении из района прицентромерного гетерохроматина в один из районов эухроматина. Сходные результаты были получены при изучении фенотипического проявления гена *hairy* у дрозофилы (Дубинин и др., 1935). В экспериментах этих авторов инактивированный аллель с помощью кроссинговера отделили от соседства с гетерохроматиновым районом и данный ген начинал функционировать нормально.

Набор моделей для изучения эффекта положения генов со временем значительно расширился. Плодотворными были исследования этой проблемы на примере гена *white*, отвечающего за пигментацию глаз дрозофилы (Жимулев, 1992, 1993, 2002; Гвоздев и др., 1999). Впоследствии данный механизм эпигенетический регуляции был установлен для дру-

гих организмов, в том числе млекопитающих, включая человека (Kleinjan, van Heyningen, 1998).

Таким образом, эффект положения выявляется при перемещении гена из эухроматиновой области в гетерохроматиновую, что происходит обычно в результате инверсии или транслокации и приводит к утрате способности к транскрипции соответствующего гена. Инактивация гена при эффекте положения, начинающаяся в месте контакта эухроматина и гетерохроматина, может распространяться по направлению от гетерохроматина к теломере (Жимулев, 1993, 2002; Гвоздев и др., 1999; Корочкин, 1999, 2002). Процесс инактивации в этом случае может распространяться в хромосоме на очень большие расстояния. Е.С. Беляевой и И.Ф. Жимулевым при изучении особенностей инактивации участков хромосом была обнаружена прерывистая инактивация: гены инактивировались не последовательно, а прерывисто.

Еще одна особенность эффекта положения генов связана с сателлитными последовательностями. Было показано, что если по соседству с эухроматиновым геном оказывается протяженный участок гетерохроматина, содержащий повторяющиеся сателлитные последовательности, данный ген может стать гетерохроматиновым. Очевидно, что состояние хроматина в местах локализации определенных генов (прежде всего, их промоторных и энхансерных последовательностей) зависит от доступности к ДНК основных регуляторов транскрипции: РНК-полимеразы и транскрипционных факторов. Поэтому перемещение гена из эухроматиновой в гетерохроматиновую область влияет на его транскрипцию и, в конечном счете, на его фенотипическое проявление (Kleinjan, van Heyningen, 1998; Wallrath, 1998; Жимулев, 1992, 2002; Гвоздев и др., 1999; Корочкин, 1999, 2002).

Мозаичный эффект положения гена

Следует отметить, что начало исследования этого явления было положено Г. Меллером еще в 1930 г. при анализе проявления доминантности аллеля, локализованного в хромосомной перестройке, которая возникала в результате облучения. Мозаичный эффект положения можно охарактеризовать как инактивацию гена при его переносе в окрестности гетерохроматина с сохранением его активности в части клеток (Wallrath, 1998; Жимулев, 1992, 1993, 2002; Гвоздев и др., 1999).

Выделяют два типа мозаичности эффекта положения гена: секторальный и мелкопятнистый. Секторальный тип мозаичности указывает на необратимость инактивированного состояния и передается дочерним клеткам после каждого цикла деления. Мелкопятнистый тип мозаичности возникает в том случае, когда инактивация генов произошла на терминальных стадиях дифференцировки, как это было показано на примере дифференцировки глаза.

Одним из примеров эффекта положения мозаичного типа служит вызванное инверсией и транслокацией перемещение (приближение) к гетерохроматиновой области гена *white* у *D. melanogaster*, что приводит в результате к мозаичной окраске глаз. Мозаичность обусловлена тем, что в одних клетках ген *white* экспрессируется, а в других он репрессирован. Данный тип эпигенетической регуляции генов связан с гетерохроматизацией соседних эухроматиновых районов и стабильной наследуемостью репрессированного состояния генов в определенных группах клеток (Жимулев, 1992, 1993; Wallrath, 1998; Гвоздев и др., 1999).

Факторы, модифицирующие эффект положения гена

Ряд факторов могут вызвать модификацию эффекта положения гена (Kleinjan, van Heyningen, 1998; Wallrath, 1998; Жимулев, 1992, 1993, 2002; Гвоздев и др., 1999). В частности, низкая температура значительно усиливает инактивацию генов, контролирующих окраску фасеток глаз у дрозофилы. На проявление эффекта положения существенное влияние оказывает количество гетерохроматина в геноме, как это было показано на примере гетерохроматина Y-хромосомы у дрозофилы. При удалении Х-хромосомы (у самцов *X0*) инактивация генов значительно усиливается, тогда как дополнительный гетерохроматин вызывает обратный эффект.

На проявление эффекта положения существенное воздействие оказывают также гены-модификаторы, усиливающие или ослабляющие процесс инактивации (Wallrath, 1998; Жимулев, 2002). Анализ функций генов-модификаторов основан на индукции мутаций энхансеров или супрессоров при помощи сильных мутагенов. Мутации этих генов влияют на степень проявления эффекта положения через изменение степени компактизации инактивированного участка эухроматина. При этом генов-супрессоров в несколько раз больше, чем генов-энхансеров. У дрозофилы обнаружено более 120 локусов, мутации в которых влияют на «эффект положения мозаичного типа».

Оказалось, что гены-модификаторы кодируют белки хромосом (Wallrath, 1998; Жимулев, 2002). Это стало очевидным после клонирования ДНК многих генов-модификаторов, а также получения антител на белки, которые они кодируют, и определения локализации этих белков. В частности, ген *Su-var(2)295* кодирует белок HP1 – один из основных структурных компонентов гетерохроматина. Предполагается, что этот белок отвечает за компактизацию гетерохроматина. Еще один ген-модификатор *Su-var(3)7* кодирует белок гетерохроматина, который содержит семь доменов связывания с ДНК и относится к семейству белков «цинковые пальцы».

И.Ф. Жимулевым (2002) была предложена модель формирования эффекта положения мозаичного типа, которая базируется на представлении о статистическом распределении гипотетических белков-компактизаторов вокруг центров инициации компактизации. В связи с этим гете-

рохроматин можно представить как область хроматина, которая содержит повышенное количество центров инициации компактизации.

ПАРАМУТАЦИИ

Парамутации были описаны более 50 лет назад (Brink, 1956), однако эпигенетическая природа этого вида регуляции стала исследоваться относительно недавно. Парамутации – взаимодействие находящихся в гетерозиготном состоянии аллельных генов, которое приводит к наследуемому изменению экспрессии одного из аллелей. Это особый вид взаимодействия между аллелями одного локуса у одного индивидуума, в результате которого один аллель (парамутагенный) влияет на другой аллель (парамутабильный), который претерпевает наследственные эпигенетические изменения (Brink, 1956; Chandler et al., 2000; Chong, Whitelaw, 2004; Rassoulzadegan et al., 2006; Hale et al., 2007).

А. Бринк (Brink, 1956), открывший парамутации, первым описал неменделевское наследование некоторых признаков у кукурузы. Впоследствии парамутации были обнаружены у млекопитающих (мышей) (Rassoulzadegan et al., 2006) и интерес к этой проблеме значительно возрос. Признаки, контролируемые парамутациями, связаны обычно с пигментацией.

В качестве примера парамутации обычно приводят ген *pl1* (*purple plant 1*), влияющий на определение окраски пыльников у кукурузы (Brink, 1956; Hale et al., 2007). Этот ген контролирует экспрессию транскрипционного фактора, регулирующего синтез одного из ферментов, который отвечает за образование пигмента антоциана. Данный ген представлен несколькими аллельными вариантами, однако только один из них *Pl1-Rh* (*Pl1-Rhoades*) способен к парамутациям. Аллель этого гена может находиться в одном из двух состояний: активном и неактивном, в зависимости от взаимодействия с другими аллелями, и проявляться в окраске пыльников: исходной пурпурной окраске или светлой после взаимодействия с другим аллелем (Hale et al., 2007). У гетерозиготных растений (*Pl1-Rh / Pl'*) ген *Pl1-Rh* переходит в неактивное состояние, т.е. приобретает свойства гена *Pl'*, что служит обычно демонстрацией парамутаций. Парамутации могут возвращаться в исходное состояние при взаимодействии с другими аллелями гена *pl1.* У кукурузы было обнаружено 10 генов, мутации которых возвращают ген *pl1* из неактивного состояния в активное (Hale et al., 2007). Один из этих генов кодирует РНК-зависимую РНК-полимеразу. Оказалось, что этот ген необходим для устойчивой передачи парамутации из поколения в поколение.

Еще один из генов этой группы – *rmr1*, кодирует белок, похожий по структуре на ферменты метилирования ДНК, что давало основание говорить о возможном поддержании «парамутантного» статуса при помо-

щи метилирования ДНК. Было также установлено, что перед геном *pl1* находится участок ДНК – фрагмент транспозона. Этот участок метилируется по-разному в диких и мутантных по гену *rmr1* растениях. Тем не менее, доказано, что уровень метилирования данного фрагмента транспозона не определяет возникновение парамутации (Hale et al., 2007). Очевидно, что эти существенные результаты недостаточны для заключения о том, каковы механизмы парамутаций.

Новые аспекты в изучении парамутаций появились после их обнаружения у млекопитающих (Rassoulzadegan et al., 2006). У лабораторных мышей была выявлена мутация в гене *Kit*, который кодирует белок, влияющий на ряд признаков, в том числе на образование темного пигмента меланина. У гетерозиготных по этой мутации мышей

($Kit^{+/-}$) окраска серая, а хвост и лапки остаются белыми. При скрещивании животных ($Kit^{+/-}$) были получены неожиданные результаты, которые нельзя объяснить с позиций классической генетики. Оказалось, что у мышей с генотипом ($Kit^{+/+}$) хвост и лапки были белыми. Можно предположить, что эти животные получили от родителей некий признак, не унаследовав при этом ген, контролирующий данный признак. Действительно было показано, что в оплодотворенную яйцеклетку, давшую начало животному с генотипом ($Kit^{+/+}$), попала РНК – продукт мутантного гена *Kit*. Эта РНК, распавшись на фрагменты разной величины, не только регулирует экспрессию гена *Kit,* но и воспроизводит саму себя (Rassoulzadegan et al., 2006).

Таким образом, как и в случае с парамутацией у кукурузы (мутация гена *pl1*) (Hale et al., 2007), новые результаты, полученные на мышах с мутацией *Kit,* пока не дают исчерпывающего ответа на вопрос о механизмах парамутаций. Однако в последние годы было установлено важное обстоятельство, согласно которому, при парамутациях переход от активного состояния генов в неактивное коррелирует с изменением структуры хроматина. Следует отметить также точку зрения, согласно которой парамутации связаны с наследственными изменениями структуры хроматина, которые реализуются через дистантные цис- и транс- взаимодействия генов (Chandler et al., 2000).

Представленные здесь результаты (Brink, 1956; Chandler et al., 2000; Chong, Whitelaw, 2004; Rassoulzadegan et al., 2006; Hale et al., 2007) показывают, что при парамутациях регуляция экспрессии генов имеет общие черты с другими видами эпигенетического контроля, которые реализуются на уровне изменения структуры хроматина.

СУПРЕССИЯ ТРАНСПОЗОНОВ

Сайленсинг генов – широко распространенный способ регуляции генной активности, включающий эпигенетические механизмы, защищает

также организм от транспозонов и вирусов (Cox et al., 1998; Smith, 1999; Aravin et al., 2001; Гвоздев, 2003; Kogan et al., 2003; Cook et al., 2004; Кленов и др., 2007). Гетерохроматиновые районы генома включают как простые повторы, так и транспозоны – неактивные мобильные генетические элементы. Транспозоны состоят обычно из двух прямых или инвертированных повторяющихся последовательностей ДНК, которые необходимы для транспозиции, а между ними располагаются белок-кодирующие гены. Иногда в центральной части транспозонов локализуются гены, которые дают селективные преимущества для организма, содержащего мобильные генетические элементы.

Транспозоны были открыты Барбарой Мак-Клинток в 1951 г. при изучении частоты генных мутаций у кукурузы. В 1948 г. она обнаружила ген, который повышал частоту хромосомных перестроек. При скрещивании особей с этим геном у потомков появлялись нестабильные мутации с неожиданно высокой частотой. Из этих работ был сделан вывод о том, что такой ген может перемещаться из одного участка хромосомы в другой; это перемещение было названо транспозицией. В 1983 г. Мак-Клинток за эти работы была удостоена Нобелевской премии. Роль транспозонов в геноме существенна. Перемещаясь внутри генома, они вызывают его дестабилизацию, способствуют хромосомным перестройкам вследствие рекомбинации между неаллельными повторами.

Обнаружено два класса транспозонов. Класс I - ретротранспозоны (ретропозоны), перемещающиеся по геному при помощи механизма обратной транскрипции их РНК. Ретротранспозоны составляют примерно 2 % генома у дрозофилы, а в геноме некоторых растений их более 40 %. Класс II - ДНК-транспозоны, перемещающиеся в результате их вырезания и последующей вставки (посредством инсерционного мутагенеза) в другие участки генома, что осуществляется при помощи транспозазы – фермента, кодируемого транспозоном (Yoder et al.,1997; Пасюкова и др., 1999; Smith, 1999; Aravin et al., 2001; Гвоздев, 2003; Kogan et al., 2003; Cook et al., 2004; Tomari et al., 2004; Vagin et al., 2004, 2006; Kalmykova et al., 2005; Quesneville et al., 2005; Бабенко, Матвиенко, 2013). Часть ретротранспозонов класса I на каждом конце содержат длинные концевые повторы (LTR). Другая часть ретротранспозонов этого класса (невирусные ретропозоны) не содержит концевых повторов. Имеется еще одна небольшая группа мобильных элементов, однако о механизме их перемещений в геноме известно мало.

Транспозоны оказывают влияние на такие процессы как лекарственная устойчивость микроорганизмов и горизонтальный перенос генов. Принято считать, что не менее 80% мутаций, включая хромосомные перестройки – результат активности транспозонов (Quesneville et al., 2005). Таким образом, дестабилизация генома путем инсерционного мутагенеза, приводящая к хромосомным перестройкам, дает основания

предполагать, что супрессия транспозонов в геноме млекопитающих приводит к защите генома хозяина от чужеродных последовательностей (Yoder et al.,1997).

Транспозоны занимают в геноме значительный объем. В частности, в геноме человека выявлено более 100 транспозонов, которые занимают более 40% его объема (Smith, 1999). Наибольшее количество транспозонов локализовано в межгенных районах с общей промоторной областью фланкирующих генов (см. Бабенко, Матвиенко, 2013). В межгенных районах, помимо транспозонов, локализованы различные элементы генома: от неактивных тандемно повторяющихся последовательностей до транскрипционно активной некодирующей РНК. На примере р-элементов – маркерных генов транспозонов, установлено, что наиболее активная супрессия отмечена в районах фланкирующих генами с общей 3'-областью (Бабенко, Матвиенко, 2013).

Каковы механизмы супрессии транспозонов? Сайленсинг генов осуществляется, как известно, с участием эпигенетических механизмов на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях. Сайленсинг на транскрипционном уровне обеспечивается за счет модификации гистонов в гетерохроматине, что приводит к недоступности соответствующих участков ДНК для РНК-полимеразы и транскрипционных факторов (Jenuwein, Allis, 2001; Bernstein et al., 2002; Strahl, Allis, 2000; Fischle et al., 2003; Margueron et al., 2005; Коряков, 2006; Kouzarides, 2007; Krebs, 2007; Ikegami et al., 2009; Осипов и др. 2010).

Сайленсинг на посттранскрипционном уровне – следствие деградации мРНК соответствующих генов, которая осуществляется при помощи РНК-интерференции и микроРНК (Fire et al., 1998; Montgomery, Fire, 1998; Elbashir, 2001; Plasterk et al., 2002; Richards, Elgin, 2002; Гвоздев, 2003; Кленов, Гвоздев, 2005; Buhler et al., 2006; Чуриков и др., 2006; Кленов и др., 2007; Алембеков и др., 2009). Эти механизмы сайленсинга генов участвуют в супрессии транспозонов.

Следует отметить, что связь между РНК-интерференцией и сайленсингом транспозонов впервые продемонстрирована на нематоде *C. elegans* (Tabara et al., 1999). В.А. Гвоздев (2003) выделил несколько этапов в изучении данной проблемы. После первой работы на эту тему в 1999 г. было показано, что у мутантов, устойчивых к введению дцРНК, гомологичной жизненно важному гену, происходит активация перемещения ДНК-транспозона Tc-1, который ограничен инвертированными повторами. Далее было установлено, что мутация в гене РНК-хеликазы хламидомонады *Chlamidomonas reihardtii* приводила к активации перемещения как ДНК-транспозонов, так и ретротранспозонов (Wu-Scharf et al., 2000). Впоследствии были обнаружены siРНК, гомологичные ретротранспозонам (Hutvanger, Zamore, 2002; Hamilton et al., 2002), что свидетельствует об участии РНК-интерференции в сайленсинге мобильных генов.

Важные результаты получены при изучении особенностей дерепрессии ретротранспозонов в яичниках дрозофилы. Было показано, что мутации определенных генов, участвующих в регуляции РНК-сайленсинга (гены *spn-E* и *aub*), вызывают накопление транскриптов мобильных элементов (Aravin et al., 2001; Kogan et al., 2003; Vagin et al., 2004, 2006; Кленов и др., 2007). Сходное влияние оказывают мутации генов *armitage* и *piwi*, которые кодируют один из белков сем. Argonaute (Cox et al., 1998) и РНК-хеликазу (Cook et al., 2004) соответственно. Мутации в гене *piwi* вызывают дерепрессию копий трансгенов, а также снижают количество коротких РНК, которые соответствуют трансгенам, тогда как мутация в гене *armitage* приводит к дерепрессии генов *stellate* в семенниках (Tomari et al., 2004). Контроль за перемещением транспозонов с помощью РНК-сайленсинга установлен как для теломерных ретротранспозонов, так и для ретротранспозонов, ограниченных длинными концевыми повторами (Кленов и др., 2007).

ПРИОНИЗАЦИЯ БЕЛКОВ

Прионы (proteinaceous infectious particles) – белки, напрямую катализирующие структурные (конформационные) превращения гомологичных клеточных белков при контакте с ними. Многие из этих белков являются инфекционными агентами («медленными инфекциями»), которые вызывают тяжелые заболевания центральной нервной системы у человека и других млекопитающих. Это обстоятельство стало одной из основных причин пристального внимания к проблеме прионизации белков (Prusiner, 1994, 1998; Инге-Вечтомов, 2000, 2003; Michelitsch, Weissman, 2000; Инге-Вечтомов и др., 2004; Шкундина, Тер-Ованесян, 2006; Liberski et al., 2008).

Прионные болезни были известны с середины XVIII века. К этому виду заболеваний относятся бычья губчатая энцефалопатия (коровье бешенство), скрепи (вертячка) овец и коз, а также ряд нейродегенеративных заболеваний человека: болезни Крейцфельда-Якоба, Герштмана-Штресслера-Шейнкера, семейная фатальная бессонница, куру. Эти заболевания до настоящего времени являются смертельными (см. Prusiner, 1994; Инге-Вечтомов и др., 2004).

Термин «прион» (*prion* – proteinaceous infectious particles) появился в конце XX века после выделения белка (PrP – Prion Protein), который вызывает заболевание «скрепи» у овец. Синтез этого белка кодируется геном *Prnp*, который обнаружен в геноме всех изученных в этом отношении млекопитающих, а также птиц и рыб. Прионы выявлены также у грибов (*Podospora ancerina*) и дрожжей (Wickner et al., 1995; Инге-Вечтомов и др., 2004). Однако эти белки у дрожжей и млекопитающих отличаются. Прежде всего, дрожжевые прионы не вызывают гибели клеток. Более того, они повышают выживаемость клеток в неблагоприятных условиях среды.

Прионы видоспецифичны: у разных организмов они отличаются аминокислотной последовательностью. В здоровой клетке прионы связаны с клеточной мембраной и гликозилированы остатком сиаловой кислоты. Эти белки могут обратимо мигрировать внутрь клетки при помощи эндо- и экзоцитоза (Liberski et al., 2008). Прионы обнаружены в головном и спинном мозге животных и человека. У животных эти белки поддерживают структурное и функциональное состояние миелиновой оболочки нейронов.

Удивительное свойство прионов – существование в двух конформационных состояниях при одинаковой первичной структуре (Michelitsch, Weissman, 2000). Речь идет о способности к превращению вторичных структур: α-спирали превращаются в β-цепи. В нормальной форме(PrP^C), характерной для здоровых клеток, преобладают α-спирали, а в инфекционной (PrP^{Sc}) форме резко увеличено содержание β-структур. PrP^C содержат 42% α-спиралей и 3% β-структур, тогда как PrP^{Sc} – 30% α-спиралей и 43% β-структур (Michelitsch, Weissman, 2000).

Переход неинфекционной формы этих белков в инфекционную (прионизация) осуществляется в результате нарушения сборки прионов, мутаций, инфекций, а также спонтанного превращения их конформации (вторичной структуры). Данные превращения прионов обратимы. В частности, при выращивании дрожжей в присутствии небольших концентраций гуанидинхлорида, обычно вызывающего денатурацию белков, инфекционная форма превращается в неинфекционную (Tuite et al., 1981; Шкундина, Тер-Аванесян, 2006).

После конформационного превращения прионы приобретают способность к агрегации в результате взаимодействия β-структур и формирования нерастворимых амилоидных бляшек, устойчивых к кислотам и протеазам. Таким образом, главная особенность этих белков в инфекционной форме – способность к агрегации, образованию амилоидных структур, которые являются основным признаком нейродегенеративных заболеваний. Агрегаты прионов после периода роста образуют «семена», которые в дочерних клетках дают начало формированию новых инфекционных прионов. Перечисленные свойства этих белков послужили основой для формирования новой концепции, согласно которой они служат *конформационными матрицами* (Инге-Вечтомов и др., 2004).

Как у уже отмечалось, прионы обнаружены также у дрожжей (Wickner et al., 1995; Michelitsch, Weissman, 2000; Инге-Вечтомов, 2000, 2003; Инге-Вечтомов и др., 2004). Это факторы терминации и трансляции eRF1 и eRF3. Белок eRF3 является продуктом гена *SUP35*. За процесс прионизации данного белка ответственны M- и N-домены, обогащенные аспарагином и глутамином, а также другими аминокислотами, способными к формированию β-структур (Инге-Вечтомов и др., 2004). Удаление M- и N-доменов не приводит к летальному исходу (в отличие от делеции C-

домена, отвечающего за терминацию трансляции), однако предотвращает прионизацию (Ter-Avanesyan et al., 1993; Шкундина, Тер-Ованесян, 2006).

М. Мичелич и Д. Вейсман (Michelitsch, Weissman, 2000) привели длинный список белков – «список Вейсмана», соответствующих критериям прионов (обогащенных аспарагином и глутамином). В данный список вошли 107 белков дрожжей, составляющих около 2% всего протеома. Это некиназные сигнальные белки, киназы, ДНК/РНК-связывающие белки, белки процессинга РНК, факторы транскрипции, факторы трансляции. У дрозофилы в «список Вейсмана» попало 472 белка (около 3,5 % протеома). Предполагается, что число потенциальных прионов не исчерпывается «списком Вейсмана» (Michelitsch, Weissman, 2000; Инге-Вечтомов и др., 2004).

Несмотря на обилие информации об удивительных структурных превращениях и функциях прионов, в этой области науки об эпигенетических механизмах много неизвестного. Одно из перспективных направлений исследований, требующих экспериментальных доказательств – идея существования внутриклеточных прионных сетей, которая базируется на зависимости появления одних прионов от наличия других (Инге-Вечтомов и др., 2004).

Какова общебиологическая роль прионов? Обсуждаются сведения об участии этих белков в регуляции трансляции, сборке и разборке цитоскелета, сборке и разборке ядерной оболочки при клеточном делении, адаптации клеток к резкой смене условий среды, а также в механизмах старения.

Глава 5. ДУПЛИКАЦИИ ГЕНОВ И АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ СПЛАЙСИНГ – ПОСТАВЩИКИ МАТЕРИАЛА ДЛЯ ЭВОЛЮЦИОННЫХ И ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ

ДУПЛИКАЦИИ ГЕНОВ

Эволюционное значение генных дупликаций

Возрастание количества признаков, свойственное организмам, усложняющимся в ходе эволюционного развития, связано, прежде всего, с увеличением количества генов. Их основным поставщиком служат дупликации генов и их последующая дивергенция (Bridges, 1919; Кольцов, 1932; Рапопорт, 1936, 1940; Ohno, 1970; Spring, 1997; Li, 1997; Li et al. 2001; Taylor et al., 2001; Hoegg et al., 2004; Yu et al., 2003; Kondrashov, Kondrashov, 2006; Свердлов, 2009; Озернюк, Мюге, 2013).

История изучения дупликации генов берет начало с работ К. Бриджеса (Bridges, 1919, 1936), обнаружившего внутрихромосомные дупликации и предложившего объяснение этому явлению. В соответствии с идеей Бриджеса, за счет дупликаций возрастает число генных локусов в хромосоме, что служит существенным фактором эволюции хромосом и генов. Эта идея нашла поддержку и получила последующее развитие в работах многих исследователей (Кольцов, 1927; Рапопорт, 1936, 1941; Serebrovsky, 1938; Ohno, 1970; Cooke et al., 1997; Li, 1997; Nowak et al., 1997; Li et al., 2001; Zhang, 2003; Haegg et al., 2004; Baily, Eichler, 2006; Kondrashov, Kondrashov, 2006; Свердлов, 2009).

Одно из наиболее тщательных экспериментальных исследований дупликации генов было выполнено И.А. Рапопортом (1936, 1941), обнаружившим многократные линейные повторы участка хромосомы у *Drosophila melanogaster*, который содержит ген *Bar* (полосковидные глаза). Многократные повторы (3–5 повторов), расположенные последовательно в хромосоме, образуются в результате неравного кроссинговера. И.А. Рапопорт экспериментальным путем получил линейные повторы: участок *Bar* был повторен 4–6 и более раз. В этих работах была высказана гипотеза, согласно которой дуплицированные гены в популяции фиксируются в результате их селективного преимущества, вызванного, главным образом, дозой дуплицированного гена (Рапопорт, 1936, 1941). Однако большинство других авторов пришло к выводу, что дупликации первоначально избыточны и селективно нейтральны, и поэтому могут фиксироваться только случайным образом (Serebrovsky, 1938; Ohno, 1970; Novak et al., 1997; Cooke et al., 1997; Zhang, 2003; Hoegg et al., 2004).

Дупликация генов и их дивергенция вносит вклад в появление новых признаков и, в конечном счете, в дивергенцию видов. Таким образом, увеличение количества генов за счет их дупликаций (возникновение паралогичных генов) ведет к новым эволюционным возможностям, в частности, к появлению новых адаптивных функций у организмов (Zhang, 2003; Hoegg et al., 2004).

В процессе исторического развития происходило несколько раундов полной дупликации генов (Ohno, 1970; Spring, 1997; Holland, 1998; Josefowicz et al., 2003; Taylor et al., 2001; 2003; Yu et al., 2003; Zhang, 2003; Hoegg et al., 2004; Garsia-Fernandez, 2005). Принято считать, что генные дупликации играли значительную роль в появлении многоклеточных организмов, возникновении позвоночных животных, формировании гомойотермии и др. В частности, Питер Холланд (Holland, 1998) связывает происхождение позвоночных, и затем челюстных животных с увеличением числа генов за счет тетраплоидизации всего генома с последующей утратой части генов. Без дупликации генов трудно представить формирование иммунной системы с большим разнообразием иммуноглобулинов у позвоночных (Zhang, 2003).

Одно из важнейших событий в эволюции животного мира – формирование билатеральной симметрии, которое произошло около 550–650 млн. лет назад – также связано с увеличением количества генов за счет их дупликаций. Решающее значение для формирования плана строения многоклеточных животных и появления билатеральной симметрии, а также сегментации тела имели кластеры генов *Hox* и *ParaHox*. Есть основания предполагать, что кластеры этих генов возникли как следствие дупликации более древнего гипотетического кластера *ProtoHox* (Holland, 1998; Fernandez, 2005).

Предполагается, что дупликация генов вносит значительный вклад в регуляцию генных сетей, поскольку эволюционное усложнение строения организмов связано с более совершенными генными регуляторными механизмами (Davidson, 2001; Davidson et al., 2003).

Роль дупликации генов в эволюционных преобразованиях детально исследована на рыбах. Период крупномасштабных дупликаций генов в ходе эволюции этой группы животных коррелирует с увеличением их видового разнообразия. Установлено, что одна из наиболее значимых генных дупликаций произошла накануне формирования костистых рыб (примерно 350 млн. лет назад), что привело к последующему существенному расцвету (эволюционной радиации) этой группы (Meyer, Van de Peer, 2003; Josephowicz et al., 2003; Taylor et al., 2003; Yu et al., 2003; Hoegg et al., 2004; Озернюк, Мюге, 2013). В частности, такая корреляция установлена на примере генных кластеров *Hox*. Дупликация нескольких десятков генов показана для многих видов рыб: данио, фугу, иглобрюха, медаки, фундулюса, меченосца и др. (Taylor et al., 2001).

Содержание дуплицированных генов в геноме разных организмов; частота генных дупликаций

Несмотря на то, что доля дуплицированных генов в геноме служит важной характеристикой того или иного вида, установить содержание белок-кодирующих генов не так просто. Прежде всего, значительная часть генов-паралогов, появившихся в результате генных дупликаций, превращается в псевдогены (Zhang, 2003). Есть и другие затруднения определения количества белок-кодирующих генов, связанные со сложностью организации генома. Следует, в частности отметить, что общее число генов, о котором можно судить на основе секвенирования всего генома того или иного организма, будет меняться в зависимости от особенностей расчетов (Свердлов, 2009). Очевидно, что сведения об общем количестве генов в геноме влияют на определение доли генных дупликаций.

Перечисленные факторы служат причиной того, что данные разных авторов о содержании дуплицированных генов в геномах различных организмов заметно отличаются. Тем не менее, приводимые результаты (табл. 6) свидетельствуют о том, что дуплицированные гены составляют значительную долю в геноме разных организмов (Zhang, 2003).

Следует отметить, что общее число генов, приведенное автором этой работы (Zhang, 2003), для некоторых видов, прежде всего, для человека, при последующих подсчетах подверглось существенному корректированию. Для человека этот показатель в настоящее время составляет 25000-30000 генов (Свердлов, 2009). Тем не менее, положение о том, что содержание дуплицированных генов в геномах разных организмов весьма значительно, остается прежним.

Таблица 6.
Содержание дуплицированных генов в геноме некоторых организмов (по Zhang, 2003)

Виды	Общее число генов	Число дуплицированных
Бактерии		
Mycoplasma pneumonise	677	44
Helicobacter pylori	1590	17
Haemophilus influenzae	1709	17
Археи		
Archaeoglobus fulgidus	2436	30
Эукариоты		
Saccharomyces cerevisiae	6241	30
Caenorhabditis elegans	18424	49
Drosophila melanogaster	13601	41
Arabidopsis thaliana	25498	65
Homo sapiens	40580	38

Темпы генных дупликаций. Какова частота дупликации генов и насколько распространено это явление? Линч и Конери (Lynch, Conery, 2000) провели расчет частоты дупликации генов и их закрепления в популяциях. По их данным одна дупликация гена у эукариот (*Homo sapiens, Mus musculus, Drosophila melanogaster, Caenorhabditis elegans, Arabidopsis thaliana, Saccharomyces cerevisiae*) происходит один раз в 100 млн. лет. Этот показатель сравним с частотой нуклеотидных замен в ядерном геноме позвоночных животных, которая составляет 0.1–0.5 млн. лет. Однако для отдельных этапов эволюционного процесса приводятся и другие данные. В частности, за период после отделения самостоятельных эволюционных ветвей человека и шимпанзе от общего предка (примерно 6 млн. лет назад) в геноме человека произошло по разным расчетам от 720 до 1800 генных дупликаций (Zhang, 2003).

Темпы аминокислотных замен в белках. При анализе механизмов дивергенции дуплицированных генов вопрос о темпах накопления мутаций имеет особое значение. По существу речь идет в данном случае о темпах эволюционных преобразований (Zuckerkandle, Pauling, 1962, 1965; Kimura, 1983; Родин, 1989; Graur, Li, 2000; Топунов, Петрова, 2001; Bromham, Penny, 2003).

В 1962 г. Полинг и Цукеркандл предложили гипотезу молекулярных часов эволюции, согласно которой аминокислотные замены в белках накапливаются пропорционально времени и не коррелируют со скоростью морфологических эволюционных преобразований (Zuckerkandle, Pauling, 1965). Идея молекулярных часов впоследствии активно обсуждалась (Kimura, 1983; Graur, Li, 2000; Bromham, Penny, 2003; MarAlba, Castresana, 2004). В частности, при анализе структуры α-гемоглобина, β-гемоглобина, миоглобина, рибонуклеазы у млекопитающих (человека, мыши, кролика, собаки, лошади, коровы и др.) М. Кимурой был сделан вывод, согласно которому скорость молекулярной эволюции (частота аминокислотных замен за единицу времени) того или иного белка постоянна и не зависит от таких факторов как время генерации, условия жизни, размер популяции (Kimura, 1983).

Постоянство скорости аминокислотных замен в белке сохраняется в том случае, когда данные замены селективно нейтральны. Следует отметить, что скорости синонимичных замен близки для разных белков, тогда как для не синонимичных замен они значительно различаются (Graur, Li, 2000).

Классификация генных дупликаций

В процессы дупликации генов вовлечены, как известно, участки генома разного размера (от отдельных фрагментов того или иного гена до целого генома). Выделяют несколько типов генных дупликаций: 1. Частичные (внутренние) дупликации отдельных участков генов; 2. Полная дуп-

ликация отдельных генов; 3. Частичная дупликация хромосом; 4. Полная дупликация хромосом; 5. Дупликация всего генома – полиплоидия.

Один из распространенных типов дупликаций – тандемные повторы, начало изучения которых в эволюционных процессах было положено в работах И.А. Рапопорта (Рапопорт, 1936, 1940, 1941). По механизму формирования тандемные дупликации являются инсерциями, длина которых значительно варьирует: от 20 п.о. до 10 кб. (Chen et al., 2005). Большинство тандемных дупликаций формируются в результате репликативного проскальзывания ДНК-полимеразы в ходе репликации (Chen et al., 2005).

За счет тандемных дупликаций относительно коротких нуклеотидных последовательностей осуществляется такой важный эволюционный процесс как увеличение размеров генов (Ohno, 1970). Например, гены, кодирующие вариабельные участки иммуноглобулинов – тяжелые (Jg_H) и легкие (Jg_L) цепи длиной примерно 600 п.о., возникли, как предполагается, в результате 12 тандемных дупликаций предковой последовательности длиной всего 48 п.о. (Ohno, 1970; Ohno et al., 1982; Айала, Кайгер, 1988).

При изучении генома приматов был выделен тип крупномасштабных дупликаций, названных сегментными (локальными) дупликациями, длиной от 1 до 200 кb и более (Samonte, Eichler, 2002; Bailey, Eichler, 2006; Свердлов, 2009). Доля сегментных дупликаций значимая и составляет, в частности, у человека 5,3 % эухроматического генома (Свердлов, 2009). Дупликации данного типа распределены в геноме неравномерно. Наибольшее количество сегментных дупликаций выявлено в Y-хромосоме, где оно составляет более 25% от общей длины. Многие перицентромерные и субцентромерные области хромосом обогащены сегментными дупликациями.

Сегментные дупликации подразделяют на две группы: внутрихромосомные, которые возникают в определенной хромосоме или плече хромосомы, и межхромосомные дупликации, при которых дуплицированные копии переносятся на негомологичные хромосомы.

Оказалось, что содержание сегментных повторов у гоминид (человек и шимпанзе) выше, чем у других млекопитающих (мышь, крыса, собака) (Samonte, Eichler, 2002; Bailey, Eichler, 2006). Было установлено, что некоторые хромосомы (в частности, 22 и Y), обогащены сегментными дупликациями в большей степени, чем другие хромосомы. Новые дупликации этого типа у человека и шимпанзе, появившиеся после их выделения в самостоятельные виды, локализуются, как правило, вокруг дупликаций, уже содержащихся в геноме предка гоминид. Все эти типы дупликаций приводят к увеличению общего числа генов на разных этапах эволюции, хотя процесс увеличения протекает крайне неравномерно.

Внутрихромосомные дупликации, состоящие из нескольких дуплицированных сегментов (низкокопийных повторяющихся последовательностей), ассоциируются во многих случаях с генетическими заболева-

ниями, возникающими в результате огромного (99%) сходства повторов и рекомбинации между ними в разных локусах (Kondrashov, Kondrashov, 2006; Свердлов, 2009).

Механизмы дупликаций генов

Новые гены возникают, прежде всего, в результате полной или частичной дупликации предшествующих генов, а также за счет слияния и разделения генов и их частей (Рапопорт, 1936, 1940; Ohno, 1970; Spring, 1997; Yu et al., 2003; Инге-Вечтомов, 2004; Chen et al., 2005; Kondrashov, Kondrashov, 2006). В настоящее время, когда установлена полная структура генома сотен организмов, стало очевидным, что в ходе эволюции количество генов возрастает многократно. Важнейший вопрос в понимании механизмов дупликаций – дивергенция паралогичных генов, точнее, механизм вовлечения дуплицированных генов в функционирующую часть генома (Ohno, 1970; Spring, 1997; Graur, Li, 2000; Li et al., 2001; Zhang, 2003).

Как правило, результат дивергенции генов-паралогов – появление близкородственных генов, принадлежащих к одному семейству. Такие гены кодируют близкородственные белки, выполняющие обычно сходные функции. К ним относятся, в частности, L- и H-цепи иммуноглобулинов, пищеварительные ферменты трипсин и химотрипсин, многочисленные семейства транскрипционных факторов, например, факторы транскрипции сем. Hox, которые обеспечивают разнообразие строения сегментов тела животного, транскрипционные факторы сем. Pax, участвующие в контроле развития глаза, мышечной системы, поджелудочной железы и др., регуляторные факторы сем. BMP, которые индуцируют развитие нервной пластинки, скелета и др.

Дупликация генов осуществляется при помощи нескольких механизмов, которые затрагивают участки генома разного размера (Li, 1997; Li et al., 2001; Zhang, 2003; Chen et al., 2005; Kondrashov, Kondrashov, 2006; Свердлов, 2009). Эти механизмы: неравный кроссинговер, ретропозиции и крупномасштабные дупликации отдельных хромосом (анеуплоидия) или всего генома (полиплоидия). В последнее время обсуждается еще один механизм дупликации генов, связанный с рядом особенностей процесса репликации ДНК – репликативное проскальзывание ДНК-полимеразы (Chen et al., 2005; Kondrashov, Kondrashov, 2006).

В отношении неравного кроссинговера (неравного обмена между двумя сестринскими хроматидами одной хромосомы, неравного обмена между двумя гомологичными хромосомами в мейозе) следует отметить, что в зависимости от позиции кроссинговера, район дупликации может включать часть гена, целый ген или несколько генов. В двух последних случаях интроны, содержащиеся в генах, будут присутствовать также в дуплицированных генах (Zhang, 2003).

При ретропозиции копия гена (ретропозона) в виде синтезированной мРНК, подвергшейся обратной транскрипции, внедряется в другое место в геноме, и функционирует как оставшаяся в активном состоянии на прежнем месте копия исходного гена. Это приводит к утрате интронов и регуляторных последовательностей, но полиА-районы и фланкирующие короткие прямые повторы сохраняются (Zhang, 2003; Chen et al., 2005).

Один из механизмов дупликации генов, относящийся, прежде всего, к тандемным дупликациям - обратное репликативное проскальзывание (backward slippage) лидирующей нити ДНК в ходе репликации (Zhang, 2003; Chen et al., 2005; Kondrashov, Kondrashov, 2006; Свердлов, 2009). При анализе генома человека и обезьян был выделен тип крупномасштабных дупликаций – сегментная (локальная) дупликация, которая затрагивает достаточно крупные фрагменты генома (Semonte, Eichler, 2002; Свердлов, 2009).

Наконец, хромосомные и геномные дупликации возникают в результате нерасхождения дочерних хромосом после репликации. Крупномасштабные дупликации, затрагивающие не только отдельные хромосомы (анеуплоидия), но и целые геномы (полиплоидия), играют важную роль в эволюционных и адаптационных процессах у животных и растений (Ohno, 1970; Айала, Кайгер, 1988; Инге-Вечтомов, 1989; Li, 1997; Li et al., 2001; Semonte, Eichler, 2002).

Судьба дуплицированных генов

Важнейший вопрос в проблеме генных дупликаций – судьба дуплицированных генов, прежде всего, их дивергенция. Судьба этих генов различна. Прежде всего, только около половины дуплицированных генов подвергается дивергенции (функциональной диверсификации) – изменениям, приводящим к появлению генов с новыми функциями (Sidow, 1996; Graur, Li, 2000; Harrison et al., 2002; Zhang, 2003; Chen et al., 2005). Важным этапом в данном каскаде преобразований служит фиксация дуплицированных генов в популяции (Kondrashov, Kondrashov, 2006).

Отто и Янг (Otto, Yong, 2003) ввели понятие «цикл дупликации», который состоит из нескольких стадий: мутации паралогичного гена, стадии полиморфизма, когда дупликация сегрегируется внутри популяции, фиксации в популяции, постфиксационные изменения, включающие дивергенцию между паралогичными генами. Фиксация дуплицированных генов в популяции происходит путем селекции случайным образом.

Гены-паралоги могут сохранять исходную структуру и функции на протяжении довольно длительного времени, что дает возможность организму синтезировать большие количества определенной РНК или белка. Данный вид дупликаций (дозовые генные повторы) встречается в тех случаях, когда в организме или в клетке возникает потребность в производстве большого количества специфических РНК или белков.

Таблица 7.
Сходство аминокислотных последовательностей (% гомологии) белков – продуктов некоторых генов в геноме человека (Graur, Li, 2000)

Пары генов	% гомологии белков	Время, прошедшее после дупликации, млн. лет
Трипсин / химотрипсин	36	1500
Гемоглобин / миоглобин	23	800
Лактатдегидрогеназа М / Н	74	600
Гемоглобин α / β	41	500
Иммуноглобулин Н / Z	25	400
Лактальбумин / лизоцим	37	350
Гормон роста / пролактин	25	330
Химотрипсин А / В	79	270
Карбоангидраза В / С	60	180
Гормон роста / лактоген	85	23

Обычно дивергенция паралогичных генов зависит от времени, прошедшего после дупликации. Белковые продукты этих генов дивергируют в разной степени и зависят также от времени, прошедшего после дупликации. Граур и Ли (Graur, Li, 2000) провели сравнительный анализ зависимости между первичной структурой родственных белков и временем, прошедшим после дупликации соответствующих генов (табл. 7).

Обнаруженная в этом исследовании обратная зависимость между процентом гомологии белков и временем, прошедшим после дупликации соответствующих генов, представляется закономерной, учитывая большой временной интервал после генных дупликаций, хотя эта зависимость далека от линейной.

Различные паралогичные гены, подвергающиеся функциональной диверсификации, испытывают изменения разного характера. Значительная часть генов-паралогов становится псевдогенами. Некоторые паралогичные гены, по существу не меняясь, сохраняют сходные (параллельные) функции на протяжении значительного времени. При небольших различиях в темпах накопления мутаций (обычно при небольших временных интервалах с момента дупликации) синтезируются близкородственные белки со сходными функциями (эти примеры описываются в рамках гипотезы «субфункциональности») (Sidow, 1996; Zhang, 2003); наконец при значительном накоплении мутаций продукты этих генов становятся новыми белками, которые обеспечивают появление в ходе эволюции новых функций (гипотеза «неофункциональности») (Sidow, 1996; Zhang, 2003).

Псевдогены. Не менее половины генов-паралогов становятся псевдогенами, т.е. они теряют свою активность или удаляются из генома в результате делеций (Lynch, 2002; Zhang, 2003). Доля псевдогенов в геномах весьма значительна. Например, у нематоды *Caenorhabditis elegans* идентифицировано 2168 псевдогенов, т.е. около одного псевдогена на

каждые восемь функционирующих генов (Harrison et al., 2001). В геноме человека число псевдогенов значительно больше: около одного на два функционирующих гена (Harrison et al., 2002). В семействе генов обонятельных рецепторов у человека и мыши – примерно 1000 генов. Однако у человека псевдогены в этом семействе составляют более 60%, а у мыши только 20%.

Многие гены обонятельных рецепторов стали псевдогенами после формирования гоминид. Редукция обоняния у них связана, по-видимому, с развитием других сенсорных механизмов, таких, например, как зрение. Процесс превращения дуплицированных функционирующих генов в псевдогены наиболее активно протекает в течение первых нескольких миллионов лет после дупликации.

Иногда псевдогены могут выполнять отдельные функции. В частности, у цыплят в геноме присутствует только один функционирующий ген *VH1*, который кодирует тяжелую цепь вариабельного района иммуноглобулинов. Установлено, что разнообразие иммуноглобулинов создается в результате многих дупликаций вариабельного района псевдогена на 5´-конце (Ota, Nei, 1995).

Сохранение исходных функций дуплицированных генов. Сохранение сходных функций генов-паралогов, имеющее место в некоторых случаях, бывает выгодным, если клетка должна синтезировать большие количества РНК или белка (Zhang, 2003). Примером таких генных продуктов служат рРНК и тРНК, участвующие в формировании рибосом и синтезе белка, а также гистоны, необходимые для формирования нуклеосом. Эта ситуация характерна прежде всего для клеток с высокой синтетической активностью. При высокой частоте генных превращений два паралогичных гена, близкие по структуре и функциям, могут служить примером так называемой согласованной (concerted) эволюции (Li, 1997; Zhang, 2003).

Субфункциональность. При небольших различиях в частоте мутирования дуплицированных генов формируются отдельные генные семейства. Гены, входящие в состав таких семейств, кодируют близкородственные белки со сходными функциями, которые составляют семейства белков, например, транскрипционных факторов (Sidow, 1996; Zhang, 2003). Следует отметить, что в состав генных семейств, образующихся в результате генных дупликаций, часто входит множество генов. Например, у *Drosophila melanogaster* семейство трипсиновых генов состоит из 111 членов, а у млекопитающих самое крупное генное семейство обонятельных рецепторов содержит почти на порядок большее количество генов (Zhang, 2003). Эти примеры свидетельствуют о масштабах дупликации генов, формирующих те или иные семейства. Принято считать, что в состав каждого семейства входят белки, гомологичные по своей первичной структуре не менее, чем на 50%.

Небольшие различия дуплицированных генов и, как следствие, отличия в структуре белков, а также их функциях, описываются в рамках гипотезы «субфункциональности». Один из примеров субфункциональности – гены *engrailed-1* и *engrailed-2*, кодирующие белковые транскрипционные факторы. Эти гены-паралоги, обнаруженные первоначально в геноме *Danio rerio*, экспрессируются в разных органах: ген *engrailed-1* в области конечностей грудного пояса, а ген *engrailed-2* в специфических нейронах заднего/спинного мозга (Force et al., 1999).

Примером субфункциональности служат также гены, кодирующие зрительный белок опсин, чувствительный к красному и зеленому свету у гоминид, включая человека. После дупликации два новых гена-паралога в результате мутаций дивергируют, а соответствующие аминокислотные замены в белке приводят к заметному (30 нм) различию в положении максимума поглощения и, как следствие, расширению цветового диапазона зрения у гоминид (Yokoyama, Yokoyama, 1989). Интересно, что функциональные отличия между красным и зеленым опсинами определяются, как считается, только двумя аминокислотными заменами.

Еще один пример субфункциональности – дупликация гена панкреатической РНКазы у обезьян, питающихся листьями. Цанг и сотр. (Zhang et al., 2002) идентифицировали две копии РНКазного гена, кодирующего РНКазу 1 и РНКазу 2, у обезьяны пегатрикса красноплюстного и азиатской тонкотелой обезьяны, тогда как у других 15 изученных видов приматов – только одну копию РНКазы 1. Белковые продукты этих генов значительно отличаются по оптимуму pH, что сказывается на особенностях функционирования данных форм фермента.

У тетраплоидного вида карповых рыб вьюна *Misgurnus fossilis* нами обнаружены две копии гена мышечной лактатдегидрогеназы (*ЛДГ-*A_4) (Zakhartsev et al., 2007). Экспрессия данных генов-паралогов при низких и относительно высоких температурах адаптации рыб заметно отличается. Секвенирование этих копий показало, что они отличаются тремя аминокислотными заменами и одна из них локализована в межсубъединичной области фермента (Zakhartsev et al., 2007; Пуляхина, Озернюк, 2011). Данная замена может влиять на характер межсубъединичных взаимодействий. Формы фермента ЛДГ-A_4, выделенные из скелетных мышц вьюнов, адаптированных к разным температурам, отличаются по своим кинетическим и термодинамическим свойствам (Ozernyuk et al., 1994; Клячко и др., 1995; Даниленко и др., 1998; Персиков и др., 1998; Озернюк, 2000).

Появление новых близкородственных генов, а, следовательно, и белков, было обнаружено при исследовании миозинов тетраплоидных рыб, в частности, легких цепей миозина (ЛЦМ) (Мюге и др., 2005; Мюге, Озернюк, 2006). В мышцах рыб, как известно, присутствуют три типа легких цепей миозина (ЛЦМ1, ЛЦМ2 и ЛЦМ3), которые участвуют в регуляции

мышечного сокращения. Ранее предполагалось, что каждый тип ЛЦМ является продуктом отдельного независимо возникшего гена. Однако в нашей работе, выполненной на данио *Danio rerio*, было показано, что ген *mlc3* – результат дупликации гена *mlc1*. Этот вывод базируется на высоком проценте гомологии структуры этих генов, а также сходстве их интрон-экзонной организации (Мюге и др.. 2005; Мюге, Озернюк, 2006). После дупликации ген-паралог *mlc1* подвергся дивергенции, выражающейся в данном случае не только в мутациях, но и утрате одного из экзонов, а также изменении структуры соседнего экзона. Эти изменения привели в конечном итоге к превращению одной из копий гена *mlc1* в *mlc3* (Мюге и др., 2005; Мюге, Озернюк, 2006; Озернюк, Мюге, 2013).

Сходная интрон-экзонная структура генов *mlc1* и *mlc3* показана еще для одного тетраплоидного вида рыб – иглобрюха *Tetraodon fahaka*, что свидетельствует об аналогичном механизме дивергенции гена-паралога *mlc3*. Таким образом, не только мутации, но и изменения строения экзонов приводят к функциональной диверсификации генов-паралогов. Эти два механизма, по-видимому, дополняют друг друга (Мюге, Озернюк, 2006; Озернюк, Мюге, 2013).

Следует отметить, что у млекопитающих, в отличие от рыб, легкие цепи миозина образуются в результате альтернативного сплайсинга (Weeds, Lowey, 1971; Frank, Weeds, 1974; Whalen et al., 1978), в процессе которого от исходного гена отщепляется фрагмент, кодирующий 50 аминокислотных остатков.

Неофункциональность. С эволюционной точки зрения важнейший результат дупликации генов – их значительная дивергенция и, как следствие, появление новых белков, обеспечивающих возникновение в ходе эволюции новых признаков. При накоплении заметного числа мутаций генов-паралогов их белковые продукты начинают отличаться. В таком случае важнейший результат генных дупликаций – появление новых генов, обеспечивающих формирование в ходе эволюции новых функций.

Следует также отметить, что в результате дупликации генов и их последующей дивергенции появление белков с родственными функциями считается более предпочтительным, чем возникновение новых функций (Yokoyama, Yokoyama, 1989; Zhang, 2003). Поэтому формирование белков с родственными (расширенными) функциями – более частый результат дивергенции соответствующих паралогичных генов по сравнению с появлением новых белков и новых функций (Yokoyama, Yokoyama, 1989).

Один из примеров неофункциональности относится к дупликации генов в суперсемействе РНКаз А у приматов (Zhang et al., 1998). В частности, гены нейротоксина эозинофилов (*EDN*) и катионного белка эозинофилов (*ECP*) человека возникли в результате генной дупликации. Итогом этих событий стало появление новой антибактериальной активности *ECP*, отсутствовавшей до дупликации. Появление данной функции произошло,

как предполагается, в результате множества замен аргининовых остатков в белке в относительно короткий период после дупликации этого гена.

Дивергенция дуплицированных генов исследована также на примере генов семейства каспаз – цистеиновых/аспарагиновых протеаз, которые у позвоночных разделяются на два подсемейства: *CED-3* и *ICE*, отличающиеся по своим функциям. Если представители подсемейства *CED-3* играют важнейшую роль в процессах апоптоза, то *ICE* участвуют, прежде всего, в формировании иммунного ответа, хотя в определенных ситуациях некоторые члены этого субсемейства могут вовлекаться также в апоптоз (Wang, Gu, 2001).

Дивергенция новых генов может происходить также за счет изменения их интрон-экзонной структуры. Данный механизм был установлен для генов, кодирующих синапсин (*syn*) и тканевой ингибитор металлопротеиназ (*timp*) у рыбы фугу *Takifugu rubripes* (Yu et al., 2003). При этом у рыб две формы гена *syn2A* и *syn2B* являются результатом дупликации предкового гена *syn*, а у человека – продуктом альтернативного сплайсинга гена *syn2*, что напоминает механизмы происхождения генов легких цепей миозина у рыб и млекопитающих.

Еще один возможный путь формирования новых генов в ходе эволюции – их слияние, а также комбинирование их отдельных участков (Инге-Вечтомов, 2004). Речь идет об экзонах, которые кодируют отдельные белковые домены, составляющие дискретные функциональные единицы в молекуле белка. С.Г. Инге-Вечтомов предполагает, что такие участки генов служат простейшими блоками (модулями), которые вовлекаются в эволюционный процесс. В связи с этим интрон-экзонная организация эукариотических генов и значение отдельных экзонов рассматривается в качестве фактора ускорения эволюции генов за счет рекомбинации, в осуществлении которой важную роль играют мобильные генетические элементы (Инге-Вечтомов, 2004).

Роль дупликации генов в онтогенетических процессах

Усложнение процессов индивидуального развития на разных этапах эволюционных преобразований связано с появлением новых признаков, которые могут формироваться благодаря новым генам. В ряде исследований установлена существенная роль дупликации генов в эволюционных, и онтогенетических процессах (Sharman, Holland, 1996; Holland, 1998, 1999; Garcia-Fernandez, 2005а, б; Мюге, Озернюк, 2006; Ozernyuk et al., 2008; Озернюк, Мюге, 2013).

Один из основоположников изучения *Hox*-генов П. Холланд (Holland, 1998, 1999) выделяет в качестве эволюционных инноваций, ставших возможными вследствие полной или частичной дупликации генома, такие новообразования как возникновение двух и затем трех зародышевых листков, формирование билатеральной симметрии, сегментации тела,

сквозной кишки, центральной нервной системы, парных органов чувств, циркуляторной системы.

Гены *Hox* и *ParaHox*

Особое место в понимании эволюционной роли дуплицированных генов, которые контролируют процессы индивидуального развития, занимают паралогичные генные кластеры *Hox* и *ParaHox,* регулирующие формирование плана строения животных (Sharman, Holland, 1996; Holland, 1998, 1999; Ferrier, Holland, 2001; Pennisi, 2001; Garcia-Fernandez, 2005; Корчагина и др., 2010). При этом у каждой систематической группы многоклеточных обнаружен свой уникальный кластер *Hox*-генов. Кластерная организация этих генов – результат тандемной дупликации предкового гена. У позвоночных отмечено два раунда полной дупликации геномов (2R-гипотеза), в том числе целых кластеров *Hox*-генов (Holland et al., 1994; Sidow, 1996). Эти гены расположены четырьмя паралогичными последовательностями в четырех разных хромосомах (см. Gould, 2002; Garsia-Fernandez, 2005; Андреева, Кулакова, 2008; Корчагина и др., 2010). У рыб произошла еще одна полная дополнительная дупликация генома (Amores et al., 1998; Taylor et al., 2001; Aparicio et al., 2002; Josefowicz et al., 2003; Hoegg et al., 2004; Yu et al., 2003; Озернюк, Мюге, 2013).

Предполагается, что возникновение анцестрального кластера *ProtoHox* -генов, состоящего, по крайней мере, из семи генов, которые контролируют развитие осевого плана строения тела, произошло у общего предка книдарий и билатеральных животных. Последующее появление кластеров *Hox* и *ParaHo*x и расхождение Bilateria по трем эволюционным ветвям (Ecdysozoa, Lophotrochozoa и Deuterostomia), вероятно, происходило уже после формирования *ProtoHox*-кластера (см. Gould, 2002; Garcia-Fernandez, 2005; Ryan et al., 2007; Андреева, Кулакова, 2008). Кластер генов *ParaHox*, возникший до расхождения двуслойных и трехслойных билатеральных животных, также играет важную роль в регуляции формирования их пространственной организации. Предполагается, что анцестральная функция кластера *ParaHox* связана с осевой регионализацией пищеварительной системы (Holland, 2001).

Наличие кластеров с последовательно расположенными эволюционно консервативными *Hox*-генами дает основания полагать, что эволюция программ индивидуального развития животных осуществлялась путем дупликаций и перестроек исходного предкового гена, а затем и кластеров *Hox*-генов. По крайней мере, семь *Hox*-генов возникли за счет тандемных дупликаций до расхождения линий билатеральных животных (Holland, 1999).

Дупликация предкового кластера генов *ProtoHox* с образованием двух паралогичных кластеров *Hox* и *ParaHox* послужила*,* вероятно, генетической основой возникновения и дивергенции билатеральных трехслой-

ных животных (Holland, 1998; Ferrier, Holland, 2001). На основе такой дупликации и выработки механизма упорядоченной активации генов *Hox*-кластера стало возможным построение тела крупных, сложно организованных животных (Holland, 1999; Davidson, 2006; Корчагина и др., 2010).

Выявлена положительная корреляция между числом *Hox*-генов и сложностью плана строения животных. В частности, предполагается, что экспансия генов *Hox*-кластера путем тандемной дупликации и возрастания числа генных семейств у позвоночных играла важную роль в эволюции фенотипической сложности организмов и их индивидуального развития (Holland, 1998, 1999; Pennisi, 2001; Ferrier, Holland, 2001). Эффект этих дупликаций и перестроек проявляется в онтогенезе в виде вставок дополнительных процессов морфогенеза, включая серийно повторяемые события, за счет чего усложняется индивидуальное развитие и дефинитивное строение организмов.

Генные дупликации, поставляющие дополнительный «сырой» генетический материал, оказались очень важными в эволюции хордовых. Сравнение *Hox*-генов ланцетника и позвоночных выявило дупликацию *Hox*-генов и тетраплоидизацию генома на ранних этапах эволюции хордовых (Sharman, Holland, 1996; Ferrier, Holland, 2001; Гилберт, 2010; Озернюк, Мюге, 2013).

Существенные результаты были получены при изучении структуры *Hox*-генов у рыб. Оказалось что *Hox*-гены у этих животных – результат дополнительной, специфической для рыб, дупликации четырех кластеров, обнаруженных у тетраподных позвоночных (амфибии, птицы, млекопитающие). Параллельно у многих рыб происходила утрата некоторых паралогичных генов. Так у данио из 8 теоретически возможных кластеров сохранилось 7 (Aa, Ab, Ba, Bb, Ca, Cb, D), содержащих 48 генов (Amores et al., 1998). У фугу *Takifugu rubripes* из 8 кластеров сохранилось только четыре: два А-кластера и по одному В и С, тогда как остальные были утрачены (Aparicio et al., 2002). В геноме цихлид (сем. Cichlidae) также произошла потеря части *Hox*-кластеров: было выявлено только шесть кластеров (Meyer, Malaga-Trillo, 1999).

Дупликация четырех кластеров *Hox*-генов, произошедшая у предковых форм рыб после отделения Acipenseriformes и Semionotiformes, привела к заметному увеличению количества этих генов, что стало основой для вспышки видообразования в этой группе животных (Holland, 1998; Pennisi, 2001; Ferrier, Holland, 2001; Taylor et al., 2001; Hoegg et al., 2004).

Эмбриональные и личиночные формы белков

Известно, что для многих белков характерно наличие эмбриональных и личиночных (неонатальных) форм, которые экспрессируются только на ранних стадиях онтогенеза. Эти формы белков во взрослом организме замещаются соответствующими дефинитивными формами (Хочачка

Сомеро, 1988; Озернюк, 1992; Топунов, Петрова, 2001; Мюге, Озернюк, 2006). Такие формы присущи, в частности, гемоглобинам, миозинам, иммуноглобулинам и др. Один из примеров – эмбриональные, личиночные и дефинитивные формы гемоглобинов у рыб (Хочачка, Сомеро, 1988) и млекопитающих (см. Топунов, Петрова, 2001) Однако обнаружить гены, кодирующие синтез этих белков, удается далеко не всегда.

Эмбриональные, личиночные и дефинитивные формы белков обнаружены для миозинов низших (Нарейко, 1988; Нарейко, Озернюк, 1988; Focant et al., 1992; Озернюк и др., 2004) и высших позвоночных (Whalen et al., 1978, 1981; Hoh, Yeon, 1979; Gauthier et al., 1982; Lowey et al., 1982; Takano-Ohmuro et al., 1982; Crow et al., 1983; Butler-Drowne, Whalen, 1984). В результате анализа структуры ряда генов было показано, что у тетраплоидных видов рыб (вьюн, иглобрюх и др.) специфическая для периода зародышевого развития эмбриональная форма миозина (точнее, его легкая цепь – ЛЦМ$_э$) кодируется одной из копий гена-паралога *mlc2* (рис. 23). Эта копия подверглась в ходе эволюции не только мутациям, но и изменениям в структуре экзонов (Мюге, Озернюк, 2006; Ozernyuk et al., 2008) (рис. 23).

Изменения коснулись двух экзонов (3а, б), которые в паралогичном гене, кодирующем эмбриональную изоформу, слиты в один экзон. Как отмечалось выше, изменение интрон-экзонной структуры может играть существенную регуляторную роль. Следует отметить, что эмбриональные и личиночные формы белков экспрессируются только на ранних этапах онтогенеза: в мышцах взрослых рыб они не выявляются.

Есть основания предполагать, что эмбриональные и личиночные (неонатальные) формы других белков кодируются паралогичными генами, которые подвергаются функциональной диверсификации (Мюге и др., 2005; Мюге, Озернюк, 2006). В этих случаях гены-паралоги претерпевают обычно небольшие изменения, и функции их белковых продуктов не слишком отличаются от функций исходных белков, что соответствует известной гипотезе «субфункциональности». Изменение интрон-экзонной организации генов-паралогов, кодирующих эмбриональные и личи-

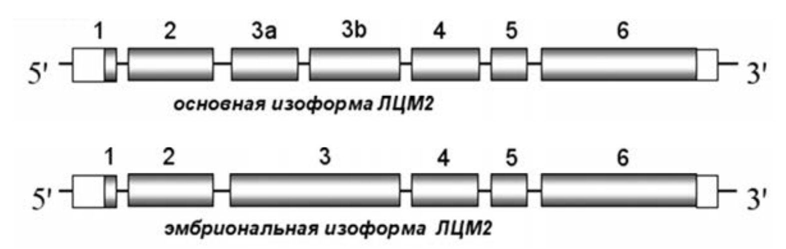


Рис. 23. Интрон-экзонная структура паралогичных генов легкой цепи миозина 2 (*mlc2*) из скелетных мышц зародышей и половозрелых данио *Danio rerio* (Мюге, Озернюк, 2006).

ночные формы белков, дополняет механизм функциональной дивергенции дуплицированных генов за счет точечных мутаций.

Роль генных дупликаций в адаптационных процессах

Дупликации генов и, прежде всего, полиплоидия, играют существенную роль в адаптациях организмов (в первую очередь, у растений) к условиям среды. Считается, что около 30% всех видов растений возникли в результате полиплоидизации. Примерно 30% покрытосеменных растений – полиплоиды (Бреславец, 1963; Айала, Кайгер, 1988; Жимулев, 2002). Таким образом, полиплоидизация играет важную роль в эволюционных адаптациях, расширении адаптивных возможностей и видообразовании у растений, их приспособлениях к неблагоприятным условиям среды (Бреславец, 1963; Цвелев, 2005). Горные и арктические виды растений, живущие в экстремальных условиях, являются преимущественно полиплоидами.

Генные дупликации играют важную роль в адаптационных процессах у животных. Один из примеров – полиплоидия у рыб. Как уже отмечалось, у этих животных около 350 млн. лет назад накануне формирования костистых рыб произошла полная дупликация генома (полиплоидизация). Данное событие, как предполагается, привело к последующему значительному увеличению видового разнообразия этой группы животных (Amores et al., 1998; Aparicio et al., 2002; Josefowicz et al., 2003; Meyer, Van de Peer, 2003; Taylor et al., 2003; Yu et al., 2003; Hoegg et al., 2004; Озернюк, Мюге, 2013).

Были проведены исследования участия паралогичных генов в адаптационных процессах с использованием секвенирования генов-паралогов, а также анализа свойств продуктов этих генов – изоформ белков (Озернюк, 1992, 2000, 2003; Ozernyuk et al., 1994; Клячко и др., 1995; Даниленко и др., 1998; Персиков и др., 1998; Zakhartsev et al., 2007; Пуляхина, Озернюк, 2011; Озернюк, Мюге, 2013).

Роль дупликации генов в адаптационных процессах и механизмы дивергенции дуплицированных генов изучались на модели температурных адаптаций вьюна – тетраплоидного вида костистых рыб (Zakhartsev et al., 2007; Ozernyuk et al., 2008). Первоначально было показано, что при адаптации вьюнов к низким и относительно высоким температурам среды $K_м$ для ЛДГ из скелетных мышц этих двух групп рыб существенно отличается, что может свидетельствовать об адаптации данного фермента к этим температурам (Ozernyuk et al., 1994). Помимо $K_м$, ЛДГ из мышц этих двух групп рыб отличается и по другим функциональным и структурным свойствам: термоинактивации, устойчивости к действию мочевины, белковой флуоресценции, термодинамическим параметрам и др. (Клячко и др., 1995; Даниленко и др., 1998; Персиков и др., 1998; Озернюк, 2000) (табл. 8).

Таблица 8.

Кинетические и термодинамические параметры ЛДГ из скелетных мышц вьюнов, адаптированных в течение 20 суток к 5 и 18^{0}C (Ozernyuk et al., 1994; Клячко и др., 1995; Даниленко и др., 1998; Персиков и др., 1998)

Параметры	Температура адаптации	
	5^{0}C	18^{0}C
Удельная активность фермента (U/мг.белка)	176±24	141±14
Термоинактивация: T_{50} (^{0}C)	70,2	67,0
Константа термоинактивации (мин$^{-1}$): инкубация 80 мин при 70^{0}C	0,0110±0.0004	0,0272±0.0011
Температурный минимум $K_м$ (^{0}C)	9	17
Теплоемкость при 25^{0}C, Дж (г$^{-1}$ · К$^{-1}$)	1.39±0.03	1.14±0.05
Энтальпия денатурации: сканирование 2^{0}C/мин при рН 7.0	2856	3272

В последующих работах, посвященных данной проблеме, было показано, что в тетраплоидном геноме вьюна ген *ЛДГ-A_4* представлен двумя копиями, которые отличаются по первичной структуре (Zakhartsev et al., 2007; Пуляхина, Озернюк, 2011). Соотношение данных копий значительно отличается в мышцах рыб при адаптации к низким и высоким температурам среды. При секвенировании этих копий было выявлено 44 нуклеотидных замены; на уровне фермента, продукта гена *ЛДГ-A_4*, данные различия представлены тремя аминокислотными заменами: Val214Gly, Ile302Val и Glu312Asp (рис. 24).

Моделирование пространственной структуры данного фермента, выполненное на основе первичной структуры гена *ЛДГ* показало, что одна из этих замен (Val214Gly) локализована в межсубъединичной области молекулы фермента, что приводит к появлению нового взаимодействия между субъединицами (Пуляхина, Озернюк, 2011). Это означает, что характер подвижности субъединиц может отличаться у двух копий фермента при разных температурах обитания, что реализуется в их определенных функциональных отличиях на уровне каталитической активности ЛДГ.

Из представленных данных следует, что в клетке экспрессируются обе копии ЛДГ в определенном соотношении, которое зависит от темпера-

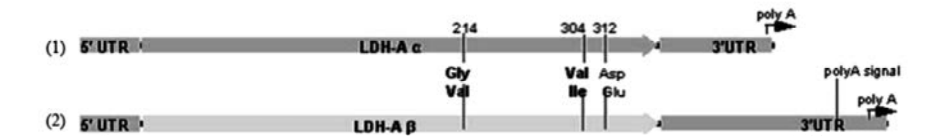


Рис. 24. Аминокислотные замены в двух копиях гена *ЛДГ-A_4* из скелетных мышц вьюнов, адаптированных к 5^{0}C (1) и 18^{0}C (2) (Zakhartsev et al., 2007; Пуляхина, Озернюк, 2011).

туры адаптации. При низких температурах экспрессируется главным образом одна из копий фермента. Выявленные различия в аминокислотной последовательности двух копий обеспечивают каждой из них более эффективное функционирование при адаптации к низкой, или высокой температуре. В итоге функционирование двух копий ЛДГ, отличающихся температурным оптимумом ферментативного катализа, дает возможность расширить температурный ареал обитания данного вида рыб в природе (Ozernyuk et al., 1994; Клячко и др., 1995; Даниленко и др., 1998; Персиков и др., 1998; Озернюк, 2000).

ПОЛИПЛОИДИЯ

Важнейшее значение для эволюционных и адаптационных процессов имеет полная дупликация генома – полиплоидия. Впервые полиплоидный организм (растение энотера *Oenothera lamarkiana*) описал Гуго де Фриз. Полиплоидизация может затрагивать как генеративные, так и соматические клетки (Stebbins, 1959, 1969; Бреславец, 1963; Райков, 1978; Бродский, Урываева, 1981; Инге-Вечтомов, 1989; Гершензон, 1991; Цвелев, 2005). Полиплоидизацию можно вызвать экспериментальным путем при помощи химических соединений и физических воздействий (Астауров, 1940, 1955, 1956, 1977; Сахаров и др., 1944; Stebbins, 1959, 1969; Айала, Кайгер, 1988; Инге-Вечтомов, 1989; Жимулев, 2002).

Генеративная и соматическая полиплоидия. Последствия для организма генеративной и соматической полиплоидии существенно отличаются (Айала, Кайгер, 1988; Инге-Вечтомов, 1989; Жимулев, 2002; Цвелев, 2005). При генеративной полиплоидии происходит слияние гамет, содержащих хромосомы, не разошедшиеся в мейозе. Слияние таких гамет приводит к образованию полиплоидной зиготы.

Соматическая полиплоидия, затрагивающая отдельные ткани и органы или группы клеток, возникает при нарушении митоза: спонтанном удвоении хромосом в ходе их репликации без последующего клеточного деления (Boivin et al., 1948; Бродский, 1966; Бродский, Урываева, 1981; Айала, Кайгер, 1988; Инге-Вечтомов, 1989). Данный тип дупликаций обеспечивает увеличение функциональной активности определенных групп клеток или тканей в определенных условиях: в период их роста, при изменении функциональной нагрузки, экспериментальных воздействиях и др. Соматическая полиплоидия характерна для клеток печени, сердца, пигментного эпителия, клеток слюнных желез и др.

Анеуплоидия (гетероплоидия). Еще один вид полиплоидии – анеуплоидия – изменение числа хромосом, некратное гаплоидному набору. Анеуплоидия возникает в результате нарушения расхождения некоторых пар хромосом. Этот вид изменения числа хромосом приводит не только к изменению характера наследования признаков, но и вызывает

ряд вариаций фенотипа. Анеуплоидия описана у многих видов растений: дурмана, табака, клевера, шпината, мяты, хлопчатника, шиповника, мяты, кукурузы и других представителей мятликовых (злаковых) (Stebbins et al., 1959, 1969; Бреславец, 1963; Жимулев, 1963; Цвелев, 2005), а также многих животных: дрозофилы, мыши, кошки, крупного рогатого скота, человека (Айала, Кайгер, 1988; Инге-Вечтомов, 1989).

У животных и человека лишняя хромосома, как правило, служит причиной торможения развития и часто приводит к летальности. Анеуплоидия у человека обычно вызывает ряд наследственных заболеваний. В частности, это аутосомные болезни с кариотипом 47 ХХХ, к числу которых относится трисомия по 21-й хромосоме (синдром Дауна), трисомия по 13-й хромосоме (синдром Патау), трисомия по 18-й хромосоме (синдром Эдвардса). Наиболее детально изучен синдром Дауна, который характеризуется высокой частотой: при рождении частота составляет 1 : 700.

Различают сбалансированные полиплоиды с четным хромосомным набором (4*n*, 6*n*, 8*n* и т.д.) и несбалансированные (3*n*, 5*n*, 7*n* и т.д.) с нечетным набором хромосом. Последние отличаются пониженной фертильностью, связанной с нарушениями регулярной коньюгации хромосом и их распределения в мейозе (Гершензон, 1991; Жимулев, 2002; Цвелев, 2005). Полиплоидия, как известно, распространена значительно шире в мире растений, чем у животных.

Эти различия связывают, прежде всего, с особенностями размножения растений и животных. Данное явление обусловлено тем, что у растений размножение происходит не только семенами, но и вегетативным путем, а также партеногенетически (апомиксис) (Айала, Кайгер, 1988; Инге-Вечтомов, 1989; Жимулев, 2002 Цвелев, 2005).

Полиплоидию можно вызывать экспериментальным путем: при помощи физических (повышенные и пониженные температуры) и химических (колхицин) факторов. Экспериментальная полиплоидизация дала возможность получить много важной информации об особенностях данного вида дупликации генов.

Полиплоидия у животных

В мире животных полиплоидия характерна для многих беспозвоночных: некоторых простейших, круглых и кольчатых червей, ракообразных, насекомых и др. Обычно у беспозвоночных это гермафродиты и виды с партеногенетическим развитием самок (некоторые жуки, бабочки, клопы, ракообразные) (Айала, Кайгер, 1988; Инге-Вечтомов, 1989; Holland et al., 1994; Taylor et al., 2001, 2003; Hoegg et al., 2003; Josefowicz et al., 2003; Мюге и др. 2005; Мюге, Озернюк, 2006; Zarhartsev et al., 2007; Озернюк, Мюге, 2013).

Особый интерес представляет полиплоидия у простейших (Полянский, Райков, 1960; Райков, 1978). В частности, у инфузорий макронук-

леус является аутополиплоидным: его плоидность огромна и кратность достигает в некоторых случаях тысячи и более. Предполагается, что полиплоидия играла существенную роль в возникновении ядерного дуализма у простейших: формировании макро- и микронуклеусов, что иногда рассматривается как альтернатива митозу в плане распределения наследственного материала между дочерними клетками (Райков, 1978).

Полиплоидия обнаружена также у земляных червей (сем. Lumbricidae), которые обычно размножаются партеногенетическим способом. Среди них встречаются виды с разными хромосомными числами. При этом у некоторых видов червей найдены даже декаплоиды. Полиплоидные представители данного семейства более крупные по сравнению с диплоидными особями.

У позвоночных полиплоидия распространена среди рыб (осетровые, лососевые, некоторые карповые), а также некоторых амфибий (аксолотли, саламандры), рептилий (ящерицы) (рис. 25). Для изучения взаимосвязи дупликации генов и эволюционных преобразований наглядным примером служат рыбы. Среди рыб, насчитывающих примерно 28000 видов, полиплоидия распространена в нескольких отрядах: осетрообразных, лососеобразных, карпозубообразных, окунеобразных и некоторых других, относящихся к костистым рыбам (Васильев, 1985; Бирштейн, 1987; Нельсон, 2006). Как отмечалось выше, около 350 млн. лет назад произошла полиплоидизация генома предковых форм рыб, что повлекло за собой мощный всплеск видового разнообразия этой группы и возникновение нового таксона: костистых рыб (Taylor et al., 2001, 2003; Aparicio et al., 2002; Malaga-Trillo et al., 2002; Hoegg et al., 2003; Josefowicz et al., 2003; Мюге и др. 2005; Мюге, Озернюк, 2006; Zarhartsev et al., 2007; Озернюк, Мюге, 2013). Роль дупликации генов и эволюционной радиации костистых рыб хорошо иллюстрируется на примере *Hox*-генов, контролирующих формообразовательные процессы и, следовательно, определяющих в значительной мере морфологию взрослого организма (Amores et al., 1998; Ferrier et al., 2000; Aparicio et al., 2002).

У амфибий (прежде всего, у аксолотля) получены аутотетраплоидные и триплоидные самки. Аутотетраплоиды самок частично или полностью плодовиты, тогда как самцы полностью стерильны. Тетраплоидных аксолотлей можно получить при воздействии на яйцо тепловым или холодовым шоком, что приводит к задержке второго деления созревания и формированию яйцеклетки с диплоидным набором хромосом. При оплодотворении такой яйцеклетки сперматозоидом с гаплоидным набором хромосом образуется триплоидная зигота.

У млекопитающих удалось получить триплоидные зиготы, используя метод теплового или холодового воздействия на яйцеклетки. Триплоидные зиготы у млекопитающих могут возникать в результате полиандрии

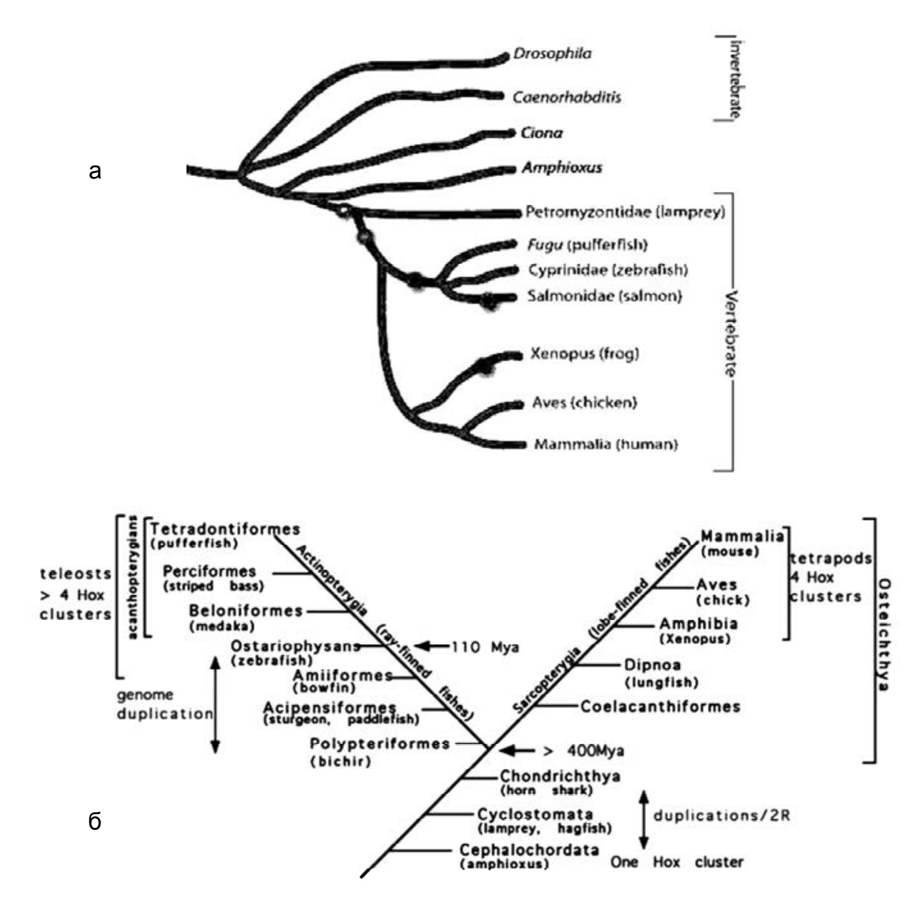


Рис. 25. Полиплоидизация (отмечена кружками) в мире животных (а) (Vikimedia. P. Zhang, 2006: из Wolfe, 2001; Adams, Wendel, 2005; Cui et al., 2006) (изменено); (б) хронология полиплоидизации хордовых (Josefowicz et al., 2003).

и полигии. Однако триплоидные эмбрионы в этом случае доживают только до половины периода беременности.

Соматическая полиплоидия. Этот вид полиплоидии, выявленный у многих животных, характерен только для части клеток организма (Boivin et al., 1948; Бродский, 1966; Маршак, Строева, 1973; Маршак и др., 1976; Бродский, Урываева, 1981). Соматическая полиплоидия распространена в мире беспозвоночных: простейших, кишечнополостных, гребневиков, олигохет, моллюсков, ракообразных, иглокожих, оболочников. У позвоночных соматическая полиплоидия характерна прежде всего для клеток млекопитающих: встречается она в гепатоцитах, кардиомиоцитах, мегакариоцитах костного мозга, меланоцитах сетчатки, β-клетках островков

Лангерганса поджелудочной железы, клеток эпителия мочевого пузыря, фибробластах, нейронах, гигантских клетках трофобласта и других тканях и органах (Бродский, Урываева, 1981). Соматическая полиплоидия по распространенности в тканях взрослых животных в наибольшей степени представлена у млекопитающих. Рекордная полиплоидизация обнаружена у мегакариоцитов костного мозга млекопитающих. Популяция этих клеток содержит от 8 до 64 наборов хромосом.

Многие важные закономерности соматической полиплоидии изучены на печени млекопитающих (Бродский, Урываева, 1981). У взрослых животных практически вся паренхима печени состоит из полиплоидных клеток. В печени человека, кроме диплоидных клеток, выявлены также тетраплоидные и октаплоидные ядра. В гепатоцитах взрослых мышей плоидность составляет обычно $16n$, однако у старых животных или после регенерации печени обнаружены отдельные клетки $32n$. Количество полиплоидных гепатоцитов заметно возрастает в начале постнатального периода млекопитающих; этот процесс начинается с увеличения двуядерных гепатоцитов $2n$ x 2.

Полиплоидизация характерна также для кардиомиоцитов млекопитающих (Бродский, Урываева, 1981). Этот процесс в миокарде происходит за счет отдельных полиплоидных клеток, содержание которых может составлять более 80% (мышь, макака-резус, человек), или за счет увеличения численности двуядерных клеток (крыса, морская свинка, собака). Полиплоидизация миокарда возрастает в процессе раннего постнатального онтогенеза млекопитающих (у мыши это первые недели после рождения). За счет полиплоидизации в значительной мере происходит рост миокарда в постнатальном периоде. При гипертрофии сердца у человека, а также при инфаркте миокарда обнаружена полиплоидизация кардиомиоцитов.

Массовая полиплоидия характерна также для клеток пигментного эпителия сетчатки некоторых млекопитающих, хотя их полиплоидизация не столь значительна по сравнению с печенью и миокардом и ограничивается образованием двуядерных клеток (Маршак, Строева, 1973; Маршак и др. 1976). Полиплоидизация пигментного эпителия начинается с первых дней постнатального периода и завершается к моменту прозревания животного. Увеличение полиплоидных меланоцитов в постнатальном периоде, в отличие от кардиомиоцитов, происходит нелинейно.

Столь широкое распространение соматической полиплоидии связано с тем, что данное явление рассматривается как фактор роста тканей, выступая при этом как эквивалент размножения клеток (Бродский, Урываева, 1981). Это означает, что рост ткани может осуществляться как за счет увеличения числа клеток, так и за счет увеличения массы отдельных клеток и, следовательно, массы внутриклеточных структур в том числе ядер, что имеет место при полиплоидии.

Полиплоидия у растений

Полиплоидия широко распространена в мире растений и наряду с гибридизацией считается важнейшим инструментом эволюционных преобразований (Stebbins, 1959, 1969; Цвелев, 2005). Практически во всех крупных таксонах растений встречаются полиплоидные виды. Принято считать, что почти треть всех видов растений возникли за счет полиплоидизации (Бреславец, 1963; Цвелев, 2005). Среди цветковых растений полиплоиды составляют 47% (Айала, Кайгер, 1988; Цвелев, 2005). По другим данным полиплоидные виды цветковых растений, в зависимости от методов расчета, составляют от 30–35% до 70–80% (Зитте и др., 2007). Полиплоиды наиболее широко представлены среди папоротников и родственных им видов; доля полиплоидных растений здесь близка к 95%. Среди нецветковых семенных растений только 5% полиплоидов. Очевидно, что столь значительное содержание полиплоидных растений в природе свидетельствует о важности полиплоидизации для эволюционных процессов.

Известно, что полиплоиды возникают в природе чаще всего в результате аллоплоидизации: при гибридизации растений разных видов, реже родов с разной плоидностью, а также при скрещивании двух диплоидных видов с последующим удвоением генома (Инге-Вечтомов, 1989; Цвелев, 2005; Зитте и др., 2007; Flagel, Wendel, 2009). Аллоплоиды характеризуются большей генетической изменчивостью и, как следствие, более выраженными приспособительными возможностями. Доля полиплоидных видов на примере цветковых растений меняется в зависимости от климатических условий: возрастает с увеличением географической широты (табл. 9).

Одно из объяснений данной зависимости может заключаться в том, что северные области Европы заселены цветковыми растениями относительно недавно, после отступления ледника (10–15 тыс. лет назад). Предпола-

Таблица 9.
Доля полиплоидных видов среди цветковых растений в различных географических широтах (Айала, Кайгер, 1988)

Регион	Географические координаты (^{0}N)	Доля полиплоидов, %
Сицилия	37	37
Венгрия	46-49	47
Дания	54-58	53
Великобритания	50-61	57
Швеция	55-69	56
Норвегия	58-71	58
Финляндия	60-70	57
Исландия	63-66	64
Южная Гренландия	60-71	72

гается, что полиплоидные виды в силу большей генетической изменчивости по сравнению с диплоидами и большего адаптивного потенциала, лучше приспособлены к заселению северных территорий с относительно суровыми климатическими условиями. В связи с возможным механизмом широтной зависимости распространения полиплоидных растений следует отметить, что при низких температурах не могут формироваться или разрушаются микротрубочки, образующие митотическое веретено. Это приводит к нерасхождению хромосом при клеточном делении, в результате чего могут возникать полиплоиды (Зитте и др. 2007).

Полиплоидные формы растений часто отличаются более крупными листьями, стеблями, цветками, семенами и плодами по сравнению с диплоидными формами, поскольку у них крупнее ядра и клетки (Зитте и др., 2007). У многих растений отмечены полиплоидные ряды, включающие формы от $2n$ до $10n$ и более (Гершензон, 1991; Цвелев, 2005). Н.Н. Цвелев (2005) отмечает: «…члены полиплоидных рядов, имеющие более высокие хромосомные числа, во всяком случае, почти всегда приурочены к более суровым условиям обитания по сравнению с членами того же ряда, имеющими более низкие хромосомные числа,…однако некоторые другие авторы говорят об отсутствии связи полиплоидии с географическим распространением. Нам кажется, что последнее вызвано исключительно тем, что этими авторами анализировались не эколого-географические расы в пределах полиплоидных рядов, а все виды в пределах определенных территорий или родов без всякого учета их действительного родства по отношению друг к другу». У полиплоидных видов значительно снижается плодовитость вследствие нарушения расхождения поливалентов в мейозе.

Полиплоидами являются также многие культурные растения. Ниже представлены данные о плоидности и количестве хромосом в соматических клетках и гаметах некоторых культурных растений (Айала, Кайгер, 1988) (табл. 10).

Если механизмы формирования генеративной полиплоидизации у растений и животных имеют сходную природу, связанную с нерасхожде-

Таблица 10.
Примеры полиплоидных культурных растений (Айала, Кайгер, 1988)

Вид	Плоидность	Число хромосом в соматических клетках	Число хромосом в гаметах
Банан	Триплоид	27 (3 x 9)	Варьирует
Картофель	Тетраплоид	48 (4 x 12)	24
Пшеница	Гексаплоид	42 (6 x 7)	21
Бойзенова ягода	Гептаплоид	49 (7 x 7)	Варьирует
Земляника	Октаплоид	56 (8 x 7)	28

нием хромосом в мейозе, то при соматической полиплоидии в результате спонтанного удвоения хромосом в соматических клетках без последующего митотического деления формируются тетраплоидные побеги, а цветки на них образуют диплоидные гаметы. Такие цветки при самоопылении дают аутотетраплоидные зиготы (Айала, Кайгер, 1988; Зитте и др., 2007). У растений полиплоидия часто совмещается с межвидовой гибридизацией, что может приводить к образованию новых видов.

Экспериментальная полиплоидия

Увеличение числа хромосом в клетке можно вызвать при помощи химических веществ (прежде всего, колхицина, а также винбластина и камфоры) и физических факторов (температуры и ионизирующего излучения), влияющих на митотический аппарат клетки.

Химические соединения. В экспериментальных условиях полиплоидные организмы получают при помощи химических веществ. Впервые тетраплоидные клетки были получены И.И. Герасимовым в 1898–1901 гг. при воздействии паров эфира и высокой температуры на водоросль спирогиру. Наиболее распространенное соединение для получения полиплоидов – алкалоид колхицин. Впервые это соединение применили для получения полиплоидов А. Блексли, О. Эйвери и Б. Небел в 1937 г. (см. Жимулев, 2002). Колхицин взаимодействует с тубулином – белком, образующим нити митотического веретена, и препятствует формированию веретена. Это приводит в итоге к нерасхождению хромосом в мейозе и формированию особей с удвоенным набором хромосом.

Еще один ингибитор митотического деления – винбластин, который, как и колхицин, блокирует полимеризацию тубулина, и также препятствует образованию митотического веретена и расхождению хромосом. У дрожжей колхицин не влияет на митотическое веретено и, следовательно, на расхождение хромосом, а полиплоидизацию можно вызвать при помощи камфоры.

Исследования в области экспериментальной полиплоидии с использованием химических соединений в нашей стране были инициированы Н.К. Кольцовым, который еще в 30-е годы прошлого века предложил В.В. Сахарову изучить действие колхицина на хромосомный аппарат растений. В 1944 г. Сахаров со своими сотрудниками С.Л. Фроловой и И.И. Мансуровой при помощи колхицина впервые получил продуктивную тетраплоидную гречиху (Сахаров и др., 1944). У исходной тетраплоидной формы гречихи плодовитость была понижена, но ее удалось повысить в ходе дальнейшей селекции этой формы. Итогом данных исследований стало создание и внедрение в производство сорта тетраплоидной гречихи «Большевик-4». Позднее был получен еще один сорт тетраплоидной гречихи «Сахаровская» селекции А.Т. Ткачева – ученика В.В. Сахарова. Экспериментальные полиплоиды гречихи, как показал Сахаров, облада-

ют большей устойчивостью к действию химических мутагенов и радиации.

Влияние физических факторов: термический партеногенез и полиплоидия. У некоторых животных, в частности у ряда амфибий (тритоны, лягушки), полиплоиды можно получать воздействием на оплодотворенные яйца высокими или низкими температурами. В этом случае возникают триплоидные особи, которые обычно рано погибают.

Полиплоидные животные были получены экспериментальным путем у тутового шелкопряда *Bombyx mori*. Искусственный (термический) партеногенез, как и природный, у этого вида связан с явлениями полиплоидии. Б.Л. Астауров (1940, 1955, 1956, 1977) установил, что крупные ооциты, встречающиеся у многих партеногенетических самок, являются тетраплоидными. При термоинактивации неоплодотворенных тетраплоидных яиц удалось получить тетраплоидных самок, способных как к партеногенетическому, так и обычному половому размножению (Астауров, 1948; Астауров, Верейская, 1960). В первом случае получались аутотетраплоиды, а во втором – при скрещивании тетраплоидных самок с диплоидными самцами были получены бесплодные триплоидные особи обоих полов. Впоследствии Б.Л. Астаурову удалось вызвать размножение бесплодных триплоидных самок путем термического партеногенеза.

Еще одно важное исследование, проведенное Б.Л. Астауровым, связано с установлением возможности длительного размножения искусственно полученных тетраплоидных животных (Астауров, Верейская, 1963). К 1970 г. было получено 12 генераций новой тетраплоидной линии тутового шелкопряда. Речь идет по существу о создании экспериментальным путем нового тетраплоидного вида животных на примере тутового шелкопряда.

Гибридизация и полиплоидия. Полиплоидию у растений вызывают (при помощи колхицина) для восстановления фертильности гибридов, полученных экспериментальным путем при скрещивании разных видов растений, относящихся иногда даже к разным родам (метод отдаленной гибридизации). Часто этот метод используется для выведения новых форм растений.

Межродовые гибриды впервые были получены Г.Д. Карпеченко в 1927–1928 гг. при скрещивании редьки (*Raphanus sativus*) с капустой (*Brassica oleracea*). Эти гибриды были практически полностью стерильны. Однако изредка формировались жизнеспособные яйцеклетки и пыльцевые зерна, которые содержали 18 хромосом (9 от редьки и 9 от капусты). Стерильные редечно-капустные гибриды F1 при низкотемпературном воздействии в период хранения дали генеративные побеги, в которых произошло удвоение хромосомного набора. В результате были получены полиплоидные растения, содержащие 36 хромосом.

Существующие способы восстановления фертильности у отдаленных гибридов дают возможность комбинировать полезные признаки исходных видов растений. Например, отечественными селекционерами Г.К. Майстером, А.Ф. Шулындиным и В.Е. Писаревым в результате гибридизации пшеницы и ржи были получены новые формы, названные тритикале, которым свойственны высокая урожайность, зимостойкость и устойчивость к заболеваниям пшеницы (см. Инге-Вечтомов, 1989).

АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ СПЛАЙСИНГ

Дупликация генов – не единственный механизм генерирования новых белков в процессе эволюции. Важную роль в данном процессе играет альтернативный сплайсинг. Этот механизм обеспечивает различные способы комбинирования экзонов мРНК для получения разных вариантов синтезируемого белка – «сплайс-варинатов» (Kopelman et al., 2005), что приводит к заметному увеличению информационной емкости генома. Речь идет обычно о близкородственных белках, обладающих сходными функциями. Роль данного способа генерирования новых белков весьма значительна, особенно у птиц и млекопитающих (Lowey, 1971; Frank, Weeds, 1974; Yu et al., 2003).

Следует отметить, что существует несколько возможных механизмов образования разных видов молекул мРНК, считываемых с одного гена (см. Levin, 2000; Жимулев, 2002; Гилберт, 2010). Это изменение инициации транскрипции за счет альтернативных промоторов, изменение терминации траскрипции, а также альтернативный сплайсинг (Жимулев, 2002). Таким образом, поскольку при альтернативном сплайсинге один ген может давать несколько разных транскриптов, информационная емкость генома существенно возрастает.

Наличие механизмов образования нескольких видов РНК, считываемых с одного гена, может объяснить, как предполагает ряд авторов, несоответствие между количеством генов в геноме и сложностью строения организмов (Graveley, 2001; Жимулев, 2002; Свердлов, 2009). Очевидно, что дупликация генов и альтернативный сплайсинг служат механизмами увеличения количества новых белков, которые обеспечивают расширение функций в ходе эволюционных процессов, что приводит в конечном итоге к созданию более сложно устроенных организмов (Graveley, 2001; Kopelman et al., 2005; Alonso, 2008; Wang et al., 2008).

Имеются данные о том, что дупликация генов и альтернативный сплайсинг как основные механизмы генерирования новых белков, связаны обратной зависимостью (Kopelman et al., 2005). В частности, некоторые белки (или формы белков) у низших позвоночных образуются в результате дупликации генов, как это было показано для легких цепей миозина у костистых рыб (Мюге, Озернюк, 2006), а у птиц и млекопита-

ющих – в результате альтернативного сплайсинга (Lowey, 1971; Frank, Weeds, 1974). Сходная ситуация характерна для генов-паралогов синапсина (*Syn2A Syn2B*) у рыб (фугу) и у человека (*Syn2*) (Yu et al., 2003).

Распространение альтернативного сплайсинга

Роль альтернативного сплайсинга в генерировании новых белков в клетке – важнейшего компонента регуляции эволюционных и онтогенетических процессов – весьма значительна, хотя у разных организмов она существенно отличается (Жимулев, 2002; Modrek, Lee, 2002; Kampa et al., 2004; Alonso, 2008). Если говорить о масштабах распространении альтернативного сплайсинга как дополнительного источника транскриптов, следует отметить, что у дрозофилы более 15% всех генов подвергаются альтернативному сплайсингу (Alonso, 2008). Имеются данные о большем распространении альтернативного сплайсинга в геноме дрозофилы (Свердлов, 2009). У человека в данном процессе участвует 40-60% генов (Modrek, Lee, 2002), а по другим оценкам – 73% или даже более 80% генов (Kampa et al., 2004). Таким образом, как отмечают авторы этих исследований, альтернативный сплайсинг следует рассматривать скорее как правило, чем исключение.

Известно, что за счет альтернативного сплайсинга, а также посттрансляционных модификаций число белковых продуктов у высших животных многократно превышает число кодирующих их генов. Показано, что у *C. elegans* около 15% продуктов генов (мРНК) подвергаются альтернативному сплайсингу, тогда как у человека – около 94% генов (Pan et al., 2008; Wang et al., 2008). Количество и разнообразие белков, генерируемых путем альтернативного сплайсинга относительно небольшим числом генов у человека, намного выше, чем у других животных. Эта особенность свидетельствует о важности данного механизма для организмов с высоким уровнем сложности.

Рецепторы

Очевидно, что распространенность альтернативного сплайсинга мРНК предполагает генерирование достаточно большого дополнительного количества транскриптов (Kampa et al., 2004; Alonso, 2008). Поразительным примером формирования сплайс-вариантов белков служит ген *Dscam* дрозофилы, который кодирует один из рецепторов – белков клеточной поверхности, принадлежащих к суперсемейству иммуноглобулинов (Ig) и выполняющих функции молекул адгезии. Белок DSCAM (Down syndrome cell adhesion molecule) состоит из 10 доменов иммуноглобулина и шести доменов фибронектина (Schmucker et al., 2000; Wojtowicz et al., 2004; Bharadwaj, Kolodkin, 2006). Некоторые мутации этого гена у человека связаны с возникновением синдрома Дауна.

Ген *Dscam* включает 95 экзонов, которые потенциально могут дать 38016 отдельных сплайс-форм мРНК (Schmucker et al., 2000; Zipursky, 2000; Свердлов, 2009). Экспериментально выявлено около 50 разных транскриптов данного гена. Этот уникальный пример свидетельствует об огромных возможностях альтернативного сплайсинга в генерировании сплайс-форм мРНК.

Фенотипический анализ мутантных дрозофил показал, что ген *Dscam* вовлечен в регуляцию ветвления аксонов и объединения их в пучки. Разнообразие изоформ белка DSCAM необходимо для формирования паттерна ветвления аксонов. Таким образом, избирательная экспрессия альтернативных сплайс-вариантов *Dscam* участвует в определении характера нейронных сетей. Молекулы сплайс-вариантов белка DSCAM обладают поразительной способностью к гомофильному, специфичному для данной изоформы связыванию именно с таким же сплайс-вариантом (Wojtowicz et al., 2004). Сплайс-варианты DSCAM позволяют нейронам отличать собственные отростки от отростков других нейронов. Для установления связей между нейронами и выживания личинок дрозофилы необходимо разнообразие сплайс-вариантов (Hattori et al., 2007).

Значительное разнообразие изоформ, образующихся за счет альтернативного сплайсинга, характерно и для многих других рецепторов. В частности, у млекопитающих выявлено четыре изоформы рецептора серотонина, которые формируются за счет альтернативного сплайсинга. Предполагается, что в мозге данные изоформы осуществляют разные физиологические функции. Изоформы рецептора серотонина образуются не только в мозге, но и в других тканях.

***Hox*-гены**

Участие альтернативного сплайсинга в создании сплайс-вариантов мРНК генов группы *Hox* детально исследовано на примере гена *Ubx* (*Ultrabithorax*) дрозофилы. Этот ген экспрессируется в задней части грудного отдела (торакса) и в переднем районе брюшного отдела (абдомена), где формируются специфические для определенных сегментов особенности различных типов клеток, включая клетки эпидермиса, центральной и периферической нервной системы, а также мезодермальных тканей. Транскрипты гена *Ubx,* образующиеся путем альтернативного сплайсинга, дают начало семейству сплайс-вариантов из шести белковых изоформ (Bomze, Lopez, 1994). Эти изоформы отличаются друг от друга наличием факультативных микроэкзонов, которые меняют расстояние между гомеодоменами – ДНК-связывающимися полипептидами, и взаимодействующими с кофакторным гексапептидом.

Изоформы Ubx проявляют дифференциальную экспрессию в ходе эмбрионального развития: изоформы, содержащие два микроэкзона, экспрессируются, как считается, в эпидермисе, мезодерме и периферичес-

кой нервной системе (Lopez, Hognes, 1991). Напротив, изоформы, у которых микроэкзоны отсутствуют, экспрессируются исключительно в центральной нервной системе.

Таким образом, альтернативный сплайсинг регулирует функциональную специфичность ряда генов, непосредственно участвующих в процессах развития. К этой группе относятся и *Hox*-гены, представляющие одно из наиболее изученных генных семейств, которое играет важнейшую роль в морфогенетических процессах и эволюционных преобразованиях онтогенеза (Holland, 1998, 1999; Ferrier, Holland, 2001; Jostfowicz et al., 2003; Hoegg et al., 2003; Taylor et al., 2003; Garsia-Fernandez, 2005).

Регуляция пола

Альтернативный сплайсинг играет существенную роль в регуляции пола. Белки, генерируемые за счет альтернативного сплайсинга, участвуют в генетическом определении пола у животных. Данный эффект установлен, в частности, для гена *Sxl* (*sex-lethal*) и его белковых сплайс-вариантов у дрозофилы (Bell et al., 1988; Smith et al., 1989; Alonso, 2008).

Выявлен механизм участия продукта альтернативного сплайсинга гена *Sxl* в регуляции пола. Для самцов и самок был показан синтез специфических транскриптов гена *Sxl*. На стадии определения пола транскрибируется специфический для самцов экзон, который включает терминирующий кодон. В результате происходит выключение синтеза специфического для самцов белка Sxl, связанного с полом, что дает возможность синтезироваться специфическому для самок белку Sxl, участвующему в определении пола (Smith et al., 1989; Alonso, 2008).

Таким образом, участие альтернативного сплайсинга в таких процессах как регуляция плана строения развивающегося организма (*Hox*-гены), регуляция пола у животных (ген *Sxl*), формирование разнообразия иммуноглобулиновых рецепторов (ген *Dscam*), которые принимают участие в формировании нейронных сетей, а также в некоторых других процессах, свидетельствует о важнейшей роли этого механизма в онтогенетических и эволюционных преобразованиях.

Вместе с тем необходимо подчеркнуть, что увеличение числа генов, а следовательно и белков, необходимых для формирования новых признаков – конечно, не единственное и не главное условие эволюционного процесса. На это обстоятельство одними из первых обратили внимание Кинг и Уилсон (King, Wilson, 1975), отметив огромное сходство белков шимпанзе и человека и очень большие различия в строении и поведении этих близкородственных видов. Авторы справедливо отмечают важнейшую роль в этих процессах регуляции синтеза белков и, как сейчас стало очевидным, роль посттрансляционных модификаций белковых молекул.

Глава 6. ГОМОЛОГИЯ ГЕНОВ И КОДИРУЕМЫХ ИМИ БЕЛКОВ

Идеи гомологии, служащие основой сравнительного подхода к анализу различных объектов и процессов, прежде всего, биологических, обсуждались давно. Понятие гомологии было введено Р. Оуэном в 1840-годы, но первоначально оно основывалось на функциональном сходстве. Начиная после 1849 г. после выхода книги Ч. Дарвина «Происхождение видов» и становления эволюционного учения гомологичными стали считать органы или структуры, унаследованные от общего предка. Идеи гомологии обсуждались многими исследователями: Э. Геккелем, Р. Оуэном, А. Ремане; в дальнейшем Н.И. Вавиловым, Дж.Г. Симпсоном, В.А. Догелем, Э. Майром, М.С. Гиляровым, И.А. Захаровым-Гезехусом, Р. Рэффом и Т. Кофменом, Ю.В. Мамкаевым и др.

Согласно определению Симпсона (2006), «Гомология есть сходство, унаследованное от общего предка». Традиционно общепринятым объектом анализа данной проблемы была гомология различных структур. Для выделения гомологии из других видов сходства тех или иных объектов используют ряд критериев. К этим критериям относятся: положение сравниваемых структур, их специальные качества, непрерывность в ряду поколений и др. (Гиляров, 1964; Майр, 1971; Родин, 1989; Захаров-Гезехус, 2008; Shubin et al., 2009; Гилберт, 2010).

Для анализа проблем гомологии существенное значение имеет концепция иерархичности (Abouheif, 1997, 1999; Abouheif et al., 1997), предполагающая исследование гомологии на разных уровнях организации живого: от генов до формирования морфологических признаков взрослого организма. Следует также отметить, что в молекулярной генетике, где в одном геноме присутствует множество гомологичных генов, критерии гомологии иные, чем, например, в эволюционной морфологии (Захаров-Гезехус, 2008).

Принципы гомологии служат важным и эффективным инструментом анализа закономерностей эволюционных и онтогенетических процессов. В настоящее время в связи с развитием геномики возрос интерес к исследованиям проблем гомологии на уровне генетической регуляции индивидуального развития (Рэфф, Кофмен, 1986; Корочкин, 2002; Дондуа, 2005; Гилберт, 2010; Озернюк, Мюге, 2012). Анализ принципов гомологии для изучения филогенетических и онтогенетических событий на уровне структуры генов приведен в книге И.А. Захарова-Гезехуса (2008) «Проблема гомологии в эволюционной биологии».

В процессе эволюции геномы различных животных претерпели значительные изменения. Прежде всего, существенно возросло количество генов, за счет чего многократно увеличилась информационная емкость

генома; появились новые признаки, кодируемые новыми генами, а также ткане- и органоспецифические генные регуляторные сети и наборы структурных генов, характерных для того или иного органа или ткани. При этом молекулярная основа процессов жизнедеятельности по существу не менялась. Это означает, что многие гены, кодирующие белки, которые формируют фундаментальную основу биологических процессов на молекулярном уровне, обладают признаками гомологии.

Часть белков, выполняющих близкие функции у всех организмов, чрезвычайно консервативны. Степень гомологии белков определяется на основе сравнения их первичных структур. Следует отметить при этом, что в процессе эволюции эукариот на примере гемоглобинов было показано, что наиболее консервативной является третичная структура белков (Вайнштейн и др., 1980).

Гомология генов и их белковых продуктов характерна для формируемых ими внутриклеточных структур, а также для реакций, обеспечивающих конститутивные процессы: метаболизм (окисление, углеводный обмен и др.), синтез белка, мембранные процессы (например, ионные каналы) (Озернюк, 2004; Захаров-Гезехус, 2008; Озернюк, Мюге, 2012). Гомология генов и кодируемых ими белков определяется темпами мутаций и, как следствие, темпами аминокислотных замен.

Гомология регуляторных генов, основанная на их эволюционном консерватизме, характерна для многих групп генов (комплекс *Hox*, *sog/chordin, dpp/BMP4, Pax6/eyless, Eyes absent/eya, lin-12/Notch, RAS*, группа *Polycomb* и др. (Erwin, 1999).

Гомеобокссодержащие гены и гомеодомены

Исследования молекулярных механизмов эволюционных преобразований продемонстрировали генетический контроль плана строения Metazoa, а также выявили гомологию в структуре регуляторных генов и кодируемых ими белков. Проблема гомологии генов детально исследована на примере гомеобокссодержащих генов и гомеодоменов, обнаруженных у большинства организмов различного эволюционного статуса. Основным структурным элементом гомеозисных генов и большинства генов сегментации служит гомеобокс – высококонсервативная область ДНК. Установлена структура гомеобокса; кодируемая им белковая последовательность (гомеодомен), является составной частью транскрипционных факторов.

Гомеобокссодержащие гены, впервые открытые у дрозофилы, впоследствии были обнаружены практически у всех животных: от губок до млекопитающих, включая человека, а также у высших растений (Holland et al., 1994; Amores et al., 1998; Holland, 1998, 2001; Josefowicz et al., 2003; Hoegg et al., 2003; Carroll et al., 2005; Garcia-Fernandez, 2005а, б;

Holland, Takahashi, 2005; Davidson, 2006; Levinton, 2008; Ferrier, 2010; Андреева, Кулакова, 2010; Srivastava, 2015). У дрозофилы это *HOM*-гены, у млекопитающих – *HOX*-гены, собранные в кластер. В процессе эволюции количество *Hox*-генов возрастало. Если у первых билатеральных животных их количество не превышает 10, то у позвоночных выявлено несколько десятков этих генов.

Кластеры генов *Hox* и *ParaHox* возникли, как предполагается, в результате дупликации первичного древнего гипотетического кластера *ProtoHox* (Garsia-Fernandes, 2005а, б). Поскольку формирование билатеральной симметрии произошло примерно 600 млн. лет назад, то дупликации исходного *ProtoHox*-кластера происходили, по-видимому, несколько ранее. Возникновение значительного количества *Hox*-генов в результате дупликации первичного кластера служит основой их гомологии, которая в большей или меньшей степени характерна для представителей всего генного семейства.

Очевидно, что степень гомологии дуплицированных генов зависит от времени их дивергенции. Как и другие дуплицированные гены, *Hox* и *ParaHox* сохранили высокую степень гомологии, достигающую 97% для белков, кодируемых данными генами. Таким образом, гомология этих генов обеспечивает стабильность генетического контроля формообразовательных процессов на разных этапах эволюционных преобразований.

Гемоглобины

Семейство гемоглобинов относится к группе глобиновых кислородсвязывающих и кислород-переносящих белков в различных тканях и органах. Для этих белков характерно необычайно широкое распространение. Они встречаются у представителей всех царств живой природы: эубактерий, растений, грибов, беспозвоночных и позвоночных животных (Иржак, 1975; Вайнштейн и др., 1980; Runnegar, 1984; Хочачка, Сомеро, 1988; Родин, 1989; Озернюк, 1992; Al-Mufti et al., 2000; Zhenning, Russel, 2001; Топунов, Петрова, 2001).

Несмотря на большое разнообразие представителей семейства гемоглобинов и их распространение среди подавляющего большинства живых существ, данные белки объединены общим филогенетическим происхождением и для них характерна достаточно высокая степень гомологии. В это семейство входят гемоглобины (включающие также гемоцианин, гемоэритрин и хлоркруорин), миоглобины, растительные белки леггемоглобины и др. (рис. 26).

Функции гемоглобинов у всех организмов связаны с поддержанием кислородного режима в клетках и тканях. Для позвоночных животных основным кислород-переносящим белком является гемоглобин. К семей-

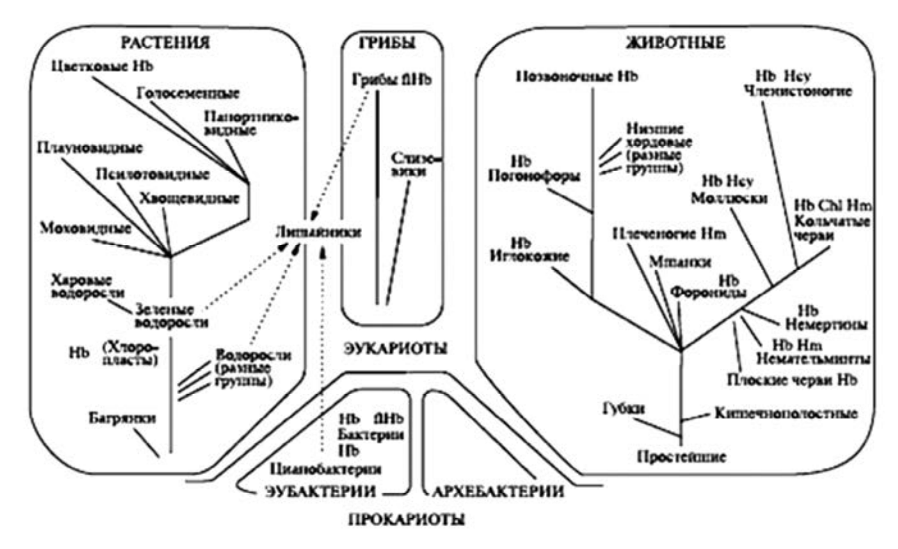


Рис. 26. Распространение гемоглобинов у представителей различных царств живой природы. Hb – гемоглобин, flHb – флавогемоглобин, Chl – хлорокруорин, Hm – гемоэритрин, Hcy –гемоцианин (Топунов, Петрова, 2001).

ству гемоглобинов относятся также распространенные среди беспозвоночных гемоцианин (моллюски и членистоногие), гемоэритрин и хлорокруорин (кольчатые черви) (Хочачка, Сомеро, 1988; Озернюк, 1992; Топунов, Петрова, 2001). Тем не менее, у некоторых беспозвоночных (плоские черви, немертины, некоторые членистоногие, некоторые моллюски, иглокожие, погонофоры) функцию переноса кислорода выполняет также гемоглобин (Хочачка, Сомеро, 1988).

У растений регуляция кислородного режима осуществляется леггемоглобинами, которые наиболее часто встречаются у бобовых растений и локализованы внутри их корневых клубеньков (Вайнштейн и др., 1980; Топунов, Петрова, 2001). Леггемоглобины гомологичны по своей структуре и функциям другим представителям большой группы глобиновых белков.

При классификации по структурному принципу выделяют надсемейство глобинов, которое состоит из трех основных семейств: миоглобинов, а также α- и β-подобных цепей гемоглобина (Родин, 1989; Топунов, Петрова, 2001). Данная группа глобинов произошла в результате дупликации предковых генов. Для этих белков характерна высокая степень полиморфизма. Их структура в разных тканях различных групп беспозвоночных и позвоночных животных отличается.

Гомотетрамер гемоглобин служит переносчиком кислорода в крови позвоночных и некоторых беспозвоночных животных, тогда как миоглобин – мономер гемоглобина, выполняет функцию запасания кислорода в

мышцах позвоночных. У бесчелюстных гемоглобин представлен мономерной формой. У позвоночных, начиная с рыб, гемоглобины содержат α- и β-цепи. Следует отметить, что в гемоглобине человека α- и β-субъединицы кодируются разными генами, которые расположены в разных хромосомах. В геноме млекопитающих обнаружены целые семейства генов, которые кодируют белки, родственные или α- или β-гемоглобину (Runnegar, 1984; Родин, 1989; Топунов, Петрова, 2001; Захаров-Гезехус, 2008).

В эволюции гемоглобинов важнейшими этапами были: возникновение миоглобинов, дивергенция α- и β-цепей гемоглобина, появление эмбриональных гемоглобинов у птиц и млекопитающих (см. Топунов, Петрова, 2001). Следует отметить, что появление новых форм гемоглобинов происходило обычно до возникновения тех или иных морфологических преобразований, связанных с кровеносной системой.

В ходе эволюции гемоглобинов эукариот наиболее консервативной оказалась их третичная структура. При сравнении леггемоглобина люпина и миоглобина кашалота выявлены значительные различия в их первичной структуре (только 17% аминокислот были инвариантны), тогда как их третичная структура (расположение α-спиралей, а также пространственное расположение гема) оказались достаточно близкими (Вайнштейн и др., 1980).

Группа гемоглобинов как переносчиков кислорода возникла, как предполагается, более 2 млрд лет назад, когда, благодаря фотосинтезу, в атмосфере Земли появилась достаточная (хотя значительно ниже, чем в настоящее время) концентрация кислорода. Предполагается, что гемоглобин отделился от цитохрома b_5-типа (Runnegar, 1984; Родин, 1989; Топунов, Петрова, 2001).

У позвоночных обнаружены специфические формы гемоглобинов, характерные для разных этапов онтогенеза. Это эмбриональные, фетальные и дефинитивные формы данного белка (Giles, Randall, 1980; Хочачка, Сомеро, 1988; Al-Mufti et al., 2000; Zhenning, Russel, 2001). Эмбриональная форма возникла около 400 млн лет назад, до появления амниот. У млекопитающих цепи эмбрионального гемоглобина относятся к α-типу. Эмбриональный гемоглобин – гетеротетрамерный белок, в состав которого входит специфическая эмбриональная ζ-цепь, не встречающаяся в других гемоглобинах. Обнаружены несколько форм эмбриональных гемоглобинов: Hb-Gower-1 ($\zeta_2\varepsilon_2$), Hb-Gower-2 ($\alpha_2\varepsilon_2$), Hb-Portland-2 ($\zeta_2\beta_2$) (Zhenning, Russel, 2001). Эмбриональная ζ-цепь относится к α-гемоглобинам, тогда как γ-, ε- и δ-цепи – к β-гемоглобинам. Эмбриональный е-гемоглобин синтезируется на самых ранних этапах внутриутробного развития человека и достаточно рано заменяется на фетальный гемоглобин F, который состоит из двух α- и двух γ-цепей (HbF-$\varepsilon_2\gamma_2$).

В свою очередь у млекопитающих замена фетального гемоглобина (F) на гемоглобин взрослого животного (A), состоящего из двух α- и двух

β-цепей (HbF-$\alpha_2\beta_2$), происходит после перехода от эмбрионального к дефинитивному эритропоэзу. У человека замена гемоглобина F на A начинается еще до рождения, однако полное замещение заканчивается у ребенка в возрасте 6–7 мес (Al-Mufti et al., 2000).

Таким образом, на разных этапах индивидуального развития состав и свойства гемоглобинов меняются. Эмбриональные и дефинитивные формы этих белков отличаются, прежде всего, по сродству к кислороду (Giles, Randall, 1980; Хочачка, Сомеро, 1988). Данная особенность гемоглобинов имеет принципиальное значение для ранних стадий онтогенеза, протекающих обычно в условиях относительно низкого содержания кислорода в среде. Большое сродство гемоглобина F к кислороду позволяет осуществлять в плаценте перенос кислорода от крови матери к крови плода. Аналогичные свойства личиночного гемоглобина позволяют малькам рыб и личинкам амфибий развиваться в условиях низкой концентрации кислорода во внешней среде.

У мальков кижуча *Oncorhynchus kisutch* – представителя лососевых рыб, сродство к кислороду гемоглобина F, как и всех фетальных гемоглобинов, необычайно высокое, а величина P_{50} очень низкая по сравнению с гемоглобином взрослых особей. Эти свойства фетальных и личиночных гемоглобинов способствуют эффективному переносу кислорода в условиях его низкого содержания в крови из-за недостатка в среде, в которой развивается организм.

Множественные формы гемоглобина, в том числе эмбриональная и фетальная формы, отличаются по электрофоретической подвижности и функциональным свойствам, прежде всего, воздействию таких модуляторов как глицерофосфат, АТФ, ГТФ, Na^+, Cl^-, Ca^{2+}, Mg^{2+} (Giles, Randall, 1980; Хочачка Сомеро, 1988; Озернюк, 1992). Важнейшей регуляторной особенностью гемоглобина служит изменение его сродства к кислороду: снижение сродства к кислороду (эффект Бора) и уменьшение кислородной емкости (эффект Рута). Изменение этих свойств определяется обратимыми конформационными изменениями гемоглобина под действием упомянутых выше модуляторов.

С.Н. Родин (1989) провел сравнение структуры надсемейства глобинов (миоглобинов, а также α- и β-подобных цепей гемоглобинов) и построил филогенетическое древо, отражающее родство (сходство) разных белков этой группы, их происхождение в результате дупликаций предковых генов, а также накопление мутаций и время расхождения генов на протяжении более 1 млрд. лет. В частности, разделение гемоглобина и миоглобина произошло у челюстных позвоночных около 500 млн лет назад; семейства α- и β-гемоглобинов появились примерно 450 млн лет назад; расхождение леггемоглобина и глобинов животных произошло более 1,5 млрд лет назад (Родин, 1989; Топунов, Петрова, 2001).

Таким образом, внутри семейства гемоглобинов, для которых характерна достаточно высокая степень гомологии, наблюдается значительная эволюционная дивергенция их структуры. Эта особенность существенно расширила приспособительные возможности отдельных представителей семейства гемоглобинов за счет более эффективной доставки кислорода к тканям и органам у животных, обитающих или развивающихся в разных условиях среды.

Гены, контролирующие развитие отдельных органов и тканей

Регуляторные гены миогенеза

Анализ эволюционных закономерностей функционирования генных регуляторных сетей, контролирующих развитие отдельных тканей и органов, дает возможность оценить соотношение гомологии и возникновения новых элементов регуляции в результате появления новых генов в ходе эволюции. На примере формирования мышечной системы у беспозвоночных и позвоночных животных изучена проблема гомологии регуляторных генов (Озернюк, 1998, 2004; Озернюк, Мюге, 2012).

Исследование особенностей генетической регуляции формирования мышечной системы у различных видов беспозвоночных и позвоночных животных, находящихся на разных ступенях эволюционного развития и принципиально отличающихся строением мышечной системы, дает возможность провести оценку гомологии ортологичных регуляторных генов, а также выявить эволюционные этапы, на которых происходит усложнение регуляции миогенеза.

В настоящее время получены данные об особенностях генетической регуляции развития мышечной системы у представителей многих типов и классов животных: нематод, насекомых, иглокожих, асцидий, рыб, амфибий, птиц и млекопитающих (Sulston et al., 1983; Chen et al., 1994; Dunin-Borkowski et al., 1995; Baylies, Bate, 1996; Baylies et al., 1998; Озернюк, 1998, 2004; Castanon et al., 2001; Baylies, Micxhelson, 2001; Fisher et al., 2002; Meedel et al., 2002; Wang et al., 2004а, б; Feng et al., 2006; Hammond et al., 2007; Duan et al., 2007; Yi et al., 2009; Озернюк, Мюге, 2012). У подавляющего большинства этих животных начальные этапы развития мышечной системы инициируются в результате индукционных воздействий эктодермы и ее производных на мезодерму, которая служит источником формирования мышечной ткани. Индукционные сигналы активируют регуляторный генный каскад миогенеза, в основе которого, как и во многих других дифференцировках, находятся представители семейства регуляторных генов Pax: *Pax3, Pax7*. В свою очередь продукт гена *Pax7* активирует экспрессию транскрипционных факторов сем. *bHLH* – основных регуляторов формирования мышечной системы.

Механизмы генетической регуляции миогенеза

Сравнительный анализ данной проблемы свидетельствует о двух основных механизмах регуляции начальных этапов миогенеза: а) формирование мышечной системы из отдельных клеточных клонов; б) за счет индукционных воздействий белковых продуктов генов соседней эктодермы и ее производных на мезодерму, служащую источником мышечной ткани (Sulston, Horvitz, 1977; Sulston et al., 1983; Braun et al., 1990; Olson, 1992; Olson, Klein, 1994; Baylies, Bate, 1996; Rawls, Olson, 1997; Baylies et al., 1998; Озернюк, 1998, 2004; Castanon et al., 2001; Baylies, Michelson, 2001; Meedel et al., 2002; Озернюк, Мюге, 2012). Для подавляющего большинства животных индукционные механизмы играют первостепенную роль в дифференцировке скелетной мускулатуры. На молекулярном уровне индукционные процессы проявляют высокую степень гомологии, несмотря их на разнообразную организацию на тканевом уровне.

Нематоды. Анализ развития мышечной системы у *Caenorhabditis elegans* свидетельствует о том, что детерминация определенных закладок различных структур (в том числе и мускулатуры) происходит на очень ранних этапах развития (Krause et al., 1990; Chen et al., 1994; Baylies, Michelson, 2001). Экспрессия генов, контролирующих детерминацию и ранние стадии миогенеза у этого вида нематод, начинается на самых ранних стадиях эмбриогенеза – в отдельных бластомерах (табл. 11).

Данные о клеточных и тканевых механизмах регуляции начальных этапов миогенеза, представленные в табл. 11, свидетельствуют о том, что у *C. elegans* мускулатура, состоящая только из мышц стенки тела и глотки, формируется из отдельных клеточных клонов (Sulston, Horvitz, 1977; Sulston et al., 1983; Baylies, Michelson, 2001). Уже на стадии четырех бластомеров транскрипционные факторы SKN-1, PAL-1, PIE-1 распределяются по разным бластомерам, что служит предпосылкой раннего образования различных клонов клеток. В частности, развитие мускулатуры определяется попаданием в определенные бластомеры фактора PAL-1.

Мышцы стенки тела личинки этого вида нематод формируются из потомков клеточных линий AB, MS, C и D, а личиночные мышцы глотки – из потомков клеточных линий AB и MS (Sulston et al., 1983; Baylies, Michelson, 2001).

Для анализа особенностей детерминации и ранних этапов дифференцировки мышц (как и других структур) у *C. elegans* важное значение имели эксперименты по изучению судьбы клеток с использованием лазерного луча, разрушающего ядра отдельных клеток (Sulton et al., 1983). В этих опытах было установлено, что развитие тех или иных структур зависит в основном от происхождения отдельных клеток, а не от межклеточных или индукционных взаимодействий.

Насекомые. У *Drosophila melanogaster* инициация генетической программы формирования мышц происходит в результате индукционных

Таблица 11.
Гомология ортологичных генов, участвующих в регуляции миогенеза (Озернюк, Мюге, 2012)

Вид	Клеточные и тканевые механизмы индукции миогенеза	Экспрессия гомологичных генов-ортологов
Нематоды *Caenorhabditis elegans, Pristionchus pacificus*	Формирование мышц из отдельных клеточных клонов	*Pal-1(сем. Caudal),* белок PAL-1 активирует *hlh-1,* гомолог *MyoD* позвоночных (сем. bHLH); *CeTwi* (сем. bHLH); *CeMef2* (сем. Mef2); *pal-1,* белок PAL-1 активирует *hlh-1; unc-120/SRF; fozi-1; Ppa-Pax3* (сем.Pax) активирует *hlh-1*
Насекомые Дрозофила	Индукционные воздействия продуктов генов Dpp, Hh, Wg эктодермы на мезодерму	*Pox meso* (*Poxm*) (сем. Pax); *Twist* (сем. bHLH), *tin* (*Tinman*) – мишень белка Twist (Twi); *nau* (*Nautilus*) – гомолог *MyoD* позвоночных; *L(1)sc* (сем. bHLH); *DMef2, duf* (*dumbfounded*)
Иглокожие Морской еж *Strongylocentrotus purpuratus*		*Sum-1* (сем. bHLH)
Асцидии *Ciona intestinalis Holocynthia roretzi*	Одна субпопуляция первичных клеток мышц формируется за счет клеточных клонов; другая – за счет индукционных воздействий	*CiSna* (ген *snail* у *C. intestinalis*) на самых ранних стадиях (после обособления бластомеров B6.2 и B6.4); *CiMDF* (*Ciona MyoD*) (сем. bHLH). *adm-1* (гомолог *MyoD*)
Рыбы *Danio rerio*	Индукционные воздействия продуктов гена *Hh* нервной трубки на мезодерму сомитов (дермамиотом)	*Pax3/Pax7* (сем. Pax) экспрессируются в дермамиотомах; *MyoD, Myf5* (сем. bHLH)
Амфибии Шпорцевая лягушка *Xenopus laevis*	То же	*XMyoD, Myf5*
Птицы	Индукционные воздействия продуктов генов *Wnt* и *Shh* нервной трубки и гена *Shh* хорды на мезодерму сомитов	*XMyoD, Myf5*
Млекопитающие	То же	*Pax3* экспрессируется в параксиальной энтодерме перед началом сомитогенеза; *Pax7* экспрессируется в сомитах, активирует гены сем. bHLH (*Myf5, MyoD, миогенин, MRF4*); *Dmrt2* – мишень белка Pax3; действует на Myf5

воздействий на сегментирующуюся мезодерму белковых продуктов генов *Dpp (Decapentaplegic), Hh (Hedgehog), Wg (Wingless)* эктодермы (табл. 11), (рис. 27). В частности, экспрессия гена *Dpp* приводит в итоге к разделению мезодермы на дорсальную и вентральную зоны. Передний отдел дорсальной части мезодермы испытывает индукционные воздействия от соседней эктодермы в виде экспрессии гена *Dpp* и гена *Hh.* Эта часть мезодермы будет дифференцироваться прежде всего в висцеральную мускулатуру. Задний отдел дорсальной мезодермы получает индукционные сигналы от соседней эктодермы, где экспрессируются гены *Dpp* и *Wg*. Из этой части мезодермы будет формироваться соматическая мускулатура и сердце. Экспрессия данных генов приводит к разделению мезодермы на отдельные зоны, в которых будут формироваться определенные типы мускулатуры: соматическая, висцеральная и сердечная.

Асцидии. У этих животных наблюдается сочетание обоих описанных выше механизмов образования мышц. У асцидий *Ciona intestinalis* и *Holocynthia roretzi* одна из субпопуляций первичных мышечных клеток формируется из отдельных мышечных клонов, потомков бластомера В4.1 (Meedel et al., 2002) (табл. 1), тогда как другая субпопуляция образуется в результате индукционных воздействий, исходящих от соседних тканей (Meedel et al., 2002). В мышечных закладках экспрессируются гены *CiMDF* (*Ciona MyoD*) (сем. bHLH), *adm-1* (гомолог *MyoD*), а также ген *CiSna* ген *snail* у *Ciona intestinalis*).

Позвоночные. При формировании мускулатуры у позвоночных характер индукционных взаимодействий частично отличается по сравне-

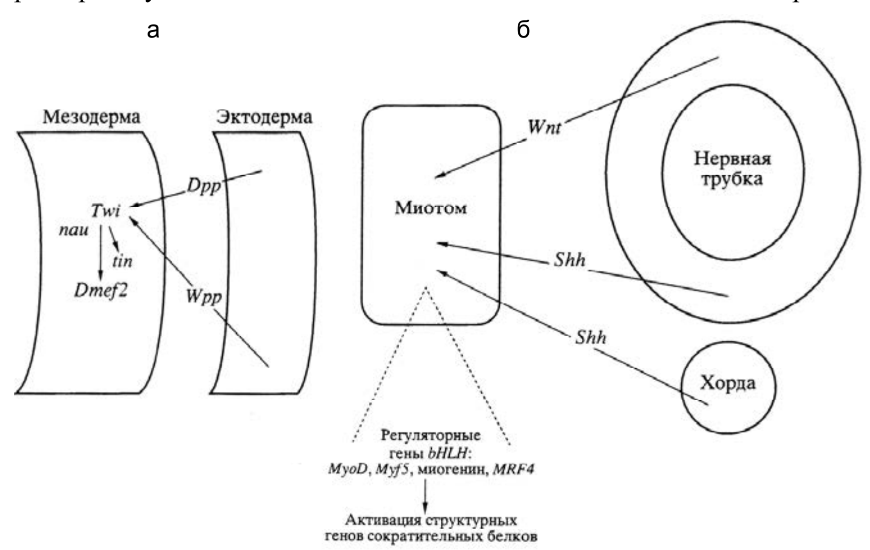


Рис. 27. Схема индукционных взаимодействий и экспрессия основных групп генов в ходе миогенеза дрозофилы (а) и позвоночных животных (б) (Озернюк, 2004).

нию с беспозвоночными и несет черты большей специализации. У позвоночных наиболее ранняя стадия дифференцировки мышц - сегментация осевой мезодермы. Эта стадия завершается образованием сомитов и их последующим разделением на склеротом и дермамиотом, а впоследствии на дерматом и миотом. Индукция и комитирование клеток в миотомах определяется морфогенетическими сигналами от соседних тканей: нервной трубки и хорды (Münsterberg, Lassar, 1995; Münsterberg et al., 1995; Rawls, Olson, 1997; Озернюк, 1998, 2004; Feng et al., 2006; Hammond et al., 2007) (табл. 11), (рис. 27).

Механизмы индукционных воздействий продуктов генов нервной трубки (*Wnt* и *Shh*) и хорды (*Shh*) на мезодерму сомитов (дермамиотом) позвоночных животных наиболее детально изучены на рыбах и млекопитающих (Hollenberg et al., 1993; Munsterberg, Lassar, 1995; Munsterberg et al., 1995; Rawls, Olson, 1997; Feng et al., 2006; Hammond et al., 2007). На других группах позвоночных эти исследования носят фрагментарный характер.

Рыбы. У рыб начальные стадии развития мышечной системы связаны с индукционными воздействиями на дермамиотом белковых продуктов гена *Hh*, экспрессирующегося в нервной трубке (табл. 11). Экспрессия *Hh* оказывает стимулирующее действие на развитие эмбриональных медленных и быстрых мышечных волокон, но ингибирует дифференцировку клеток, в которых экспрессируются гены *Pax3* и *Pax7* (Feng et al., 2006; Hammond et al., 2007). Эти этапы миогенеза у рыб связаны с дифференцировкой медленных и быстрых мышечных волокон, которые отличаются локализацией клеточных источников (Devoto et al., 1996; Weinberg et al., 1996).

Млекопитающие. У млекопитающих индукционные воздействия на дермамиотом со стороны соседних тканей (нервной трубки и хорды) сводятся в основном к активации экспрессии генов сем. *Shh* и *Wnt* (табл. 11). Индукционные сигналы, идущие от хорды и вентральной части нервной трубки, активируют экспрессию генов *Shh,* а дорсальная часть нервной трубки служит источником индукционных воздействий в виде экспрессии генов сем. *Wnt* (*Wnt-1, Wnt-3, Wnt-4*) (Munsterberg, Lassar, 1995; Munsterberg et al., 1995; Rawls, Olson, 1997). Эти индукционные сигналы приводят к активации генов сем. bHLH (*MyoD, Myf5, myogenin, MRF-4*), кодирующих соответствующие транскрипционные факторы – специфические регуляторы миогенеза (Hollenberg et al., 1993; Olson, Klein, 1995; Rawls, Olson, 1997).

Таким образом, в процессе эволюции мышечной системы происходит переход от формирования мышц за счет отдельных клеточных клонов (нематоды и частично асцидии) к миогенезу за счет индукционных воздействий на мезодермальные закладки со стороны производных эктодермы. При этом представители основных семейств регуляторных генов миогенеза сохраняют высокую степень гомологии.

Гомология основных регуляторных генов миогенеза. Гены семейств Pax и bHLH

Сравнительный анализ структуры регуляторных генов миогенеза, которые входят в состав двух основных генных семейств Pax и bHLH, указывает на высокую степень гомологии в каждом из семейств у разных животных. Данный вывод относится к генам *Pax3* и *Pax7* (сем. Pax), а также представителям семейства bHLH, которые кодируют экспрессию различных транскрипционных факторов, в том числе миогенных факторов транскрипции (Sulston, Horvitz, 1977; Sulston et al., 1983; Braun et al., 1990; Pawnal, Emerson, 1992; Olson, 1992; Olson, Klein, 1994; Baylies, Bate, 1996; Rawls, Olson, 1997; Baylies et al., 1998; Beach et al, 1999; Castanon et al., 2001; Baylies, Michelson, 2001; Meedel et al., 2002; Озернюк, 2004; Wang et al., 2004; Duan et al., 2007; Feng et al., 2006; Hammond et al., 2007; Yi et al., 2009; Озернюк, Мюге, 2012) (табл. 11).

Представители гомеобоксных генов семейства Pax контролируют развитие многих органов и тканей, выступая в некоторых случаях в роли «мастер-генов» (master control genes), т.е. определяют функционирование генных каскадов, которые регулируют органо- и тканеспецифические дифференцировки. К этой категории относится, в частности, ген *Pax6*, контролирующий развитие глаза. Гены *Pax3* и *Pax7* регулируют каскады миогенной дифференцировки.

Представители семейства генов bHLH обладают широким спектром действия, принимая участие в регуляции процессов миогенеза, нейрогенеза, кроветворения, регуляции пола и др. (Hollenberg et al., 1993; Olson, Klein, 1994; Rawls, Olson, 1997; Озернюк, 2004; Feng et al., 2006; Hammond et al., 2007). Транскрипционные факторы bHLH имеют сходную структуру; их активность модулируется взаимодействием с другими регуляторными белками. В частности, представитель сем. bHLH формирует гетеродимер с активатором транскрипции E12, который содержит bHLH-мотив, взаимодействующий со специфическим энхансерным участком ДНК с бьльшим сродством, чем гомодимер MyoD.

Транскрипционные bHLH-факторы (MyoD, Myf5, миогенин и MRF4) экспрессируются на определенных стадиях формирования мышц (Olson, Klein, 1994) (табл. 11). В частности, экспрессия генов *MyoD* и *Myf* отмечена на самых ранних этапах миогенеза – в пролиферирующих миобластах (Davis et al., 1987; Braun et al., 1989), тогда как экспрессия *миогенина* и *MRF4* наблюдается в дифференцирующихся мышечных клетках (Edmonton, Olson, 1989; Rhodes, Kenieszy, 1989; Braun et al., 1990). Данная регуляторная сеть в дорсальной и вентральной частях формирующихся мышц частично отличается последовательностью взаимодействия перечисленных регуляторных факторов миогенеза. Таким образом, гомологи генов сем. bHLH, экспрессирующиеся на тех или иных стадиях миогенеза, служат универсальным регулятором формирования мышечной системы у разных животных.

Нематоды. На самых ранних этапах развития *C. elegans* выявлена экспрессия гомеобоксного гена *Pal-1*, представителя сем. *Caudal* (Lei et al., 2009) (табл. 11). В этот период развития нематоды белковый продукт данного гена Pal-1 активирует экспрессию гена *hlh-1*, который является гомологом *MyoD* позвоночных (Sulston, Horvitz, 1977; Sulston et al., 1983). Гомология структуры белка, кодируемого этим геном, составляет 79%. Белковый продукт данного гена – CeMyoD обнаружен на самых ранних стадиях зародышевого развития в бластомерах – предшественниках мышечной системы, что свидетельствует об очень ранней детерминации клеток миогенной линии и на уровне регуляторных генов.

В регуляции развития мышц (детерминации и дифференцировки) у *C. elegans* участвует также ген-ортолог *CeTwi*, белковый продукт которого относится к группе транскрипционных факторов Twist, входящей в состав сем. bHLH (Krause et al., 1990; Chen et al., 1994; Wang et al., 2004;Yi et al., 2009). Ген *CeTwi* экспрессируется в клетках мезодермы, а его белковый продукт принимает участие в разделении мезодермальной закладки на отдельные зоны, которые дают начало определенным типам мышц. Таким образом, уже на ранних этапах эволюционного развития у представителей круглых червей, экспрессируются регуляторные гены миогенеза, относящиеся к сем. bHLH, которые участвуют в регуляции формирования мышечной системы у всех исследованных групп беспозвоночных и позвоночных животных.

Насекомые. У *Drosophila melanogaster* на самых ранних этапах дифференцировки зародышей обнаружена экспрессия гена *Poxm* (*Pox meso*), представителя сем. Pax (Duan et al., 2007) (табл. 11). Экспрессия этого гена выявлена в области формирования сомитов, т.е. на ранней стадии, предшествующей формированию мышечных закладок. Первоначально ген *Poxm* принимает участие в маркировке и регуляции последующего развития брюшной и латеральной мускулатуры, а впоследствии контролирует закладку миогенных клеток-предшественников, функционирующих в дефинитивных мышцах. Еще одна функция этого гена – контроль спецификации мышц DT1, VA1, VA2, VA3. Следует отметить, что для экспрессии *Poxm* необходима коэкспрессия гена *Twist*.

Ранние этапы дифференцировки мезодермы у дрозофилы связаны также с экспрессией гена *Twist*, который также относится к сем. bHLH (Baylies, Bate, 1996; Baylies et al., 1998; Castanon et al., 2001; Baylies, Michelson 2001) (табл. 11). Продукт этого гена транскрипционный фактор Twi (Twist) формирует гомо- и гетеродимеры с продуктом гена *Da* (*Daughterless*) и эти два вида димеров имеют важное регуляторное значение. Существенную роль в формировании определенных групп мышц у дрозофилы играет уровень экспрессии гена *Twist* в период зародышевого развития (Dunin-Borkowski et al., 1995; Baylies, Bate, 1996). При низком уровне его экспрессии дифференцируются висцеральная муску-

латура, жировое тело и мезодерма гонад, тогда как высокий уровень экспрессии вызывает развитие соматической мускулатуры (мышцы стенки тела) и сердца. Оказалось, что эти эффекты связаны с функционированием гомодимера Twist, или гетеродимеров этого транскрипционного фактора с продуктом гена *Da.* Экспрессирующиеся в процессе развития мышц дрозофилы гены *nau* и *l(1)sc* также являются гомологами генов сем. bHLH позвоночных животных.

Иглокожие. Строение мышечной системы этих животных, обладающих радиальной симметрией, имеет ряд особенностей, обусловленных их общим планом строения. Гладкомышечная мускулатура иглокожих, включает отдельные мышцы и мускульные полосы, которые обеспечивают подвижность этих животных за счет функции амбулакральной системы и др. У иглокожих обнаружены ортологичные гены, регулирующие ранние этапы развития мышечной системы (табл. 11). У морского ежа *Strongylocentrotus purpuratus* выявлена экспрессия гена-ортолога *sum-1*, представителя сем. bHLH (Beach et al, 1999).

Асцидии. *Ciona intestinalis, Holocynthia roretzi*. У асцидий на самых ранних стадиях развития (обособление мезодермальных бластомеров) показана активация гена *snail* (*CiSna* у *C. intestinalis*) (табл. 11). На этих стадиях экспрессируется также ген *CiMDF* (*Ciona MyoD*) – гомолог *MyoD* из сем. bHLH позвоночных (Meedel et al., 2002). У асцидий обнаружена также экспрессия гена *amd-1* – еще одного представителя сем. bHLH. Таким образом, у изученных видов беспозвоночных, представляющих разные таксоны, развитие мышечной системы регулируется генами-гомологами сем. Pax и bHLH.

Рыбы. У *Danio rerio*, наиболее исследованного в отношении миогенеза вида рыб, выявлена экспрессия гомологичных генов, основных регуляторов формирования мышечной системы (сем. Pax и bHLH) (Feng et al., 2006; Hammond et al., 2007) (табл. 11). На самых ранних этапах миогенеза в дермамиотомах данио выявлена экспрессия генов *Pax3* и *Pax7*. Белковый продукт гена *Pax7* активирует экспрессию миогенных транскрипционных факторов сем. bHLH: *MyoD* и *Myf5*. Ген *MyoD* у данио начинает экспрессироваться раньше, чем у других позвоночных: до начала сомитогенеза (Weinberg, 1996).

Амфибии. У шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* на ранних стадиях развития показана экспрессия гена *XMyoD* (Frank, Harland, 1991; Harvey, 1992) (табл. 11), который активируется эмбриональным фактором роста фибробластов (eFGF) (Fisher et al., 2002). Мишенью *XMyoD* является ген *Seb4*, кодирующий РНК-связывающий белок, который участвует в регуляции экспрессии генов миогенеза у амфибий.

Птицы. У птиц, как и у млекопитающих, сигналом к началу миогенеза служат индукционные воздействия продуктов генов нервной трубки и хорды на мезодерму сомитов. У этих позвоночных исследована эксп-

рессия регуляторных генов, относящихся к сем. bHLH (табл. 11). Было установлено, что у птиц, как и у рыб и амфибий, ген *MyoD* экспрессируется раньше, чем *Myf5* (Olson, Klein, 1994; Rawls, Olson, 1997). В частности, у перепела экспрессия *MyoD* начинается сразу после завершения сомитогенеза.

Млекопитающие. У представителей этого класса позвоночных процессы генетического контроля миогенеза исследованы наиболее детально. Под влиянием индукционных сигналов, поступающих из нервной трубки и хорды, на самых ранних этапах миогенеза экспрессируются гены сем. Pax: *Pax3* и *Pax7* (табл. 11). Последующая экспрессия транскрипционных факторов сем. HLH (*MyoD, Myf5, миогенин* и *MRF4*) активируется белковыми продуктами гена *Pax7*. Впоследствии была обнаружена экспрессия гена *Dmrt2*, который служит мишенью белкового продукта гена *Pax3* (Sato et al., 2010). Белок DMRT2 непосредственно взаимодействует с геном *Myf5*, активируя ранние стадии миогенеза.

Гены *Myf5* и *MyoD* функционируют у млекопитающих на ранних стадиях миогенеза: в пролиферирующих миобластах. В частности, у мыши первым экспрессируется *Myf5.* Впервые экспрессия этого гена выявляется в дорсальной части дермамиотома (Olson, Klein, 1994; Rowls, Olson, 1997). Экспрессия генов *миогенина* и *MRF4* происходит на более поздних этапах развития мышц: в миотубах и формирующихся мышечных волокнах (Olson, 1992; Olson, Klein, 1994; Rawls, Olson, 1997).

Таким образом, регуляция формирования мышечной системы у животных происходит при помощи сходных механизмов, включающих экспрессию гомологичных генов, представителей семейств Pax и bHLH. Вместе с тем у позвоночных система регуляции миогенеза несет черты большей специализации по сравнению с беспозвоночными. Регуляция отдельных этапов миогенеза при помощи общих для всех животных транскрипционных факторов сем. bHLH у млекопитающих представлена полным набором специфических миогенных транскрипционных факторов (*Myf5, MyoD, миогенина* и *MRF4*), которые экспрессируются последовательно на разных этапах формирования мышечной системы.

Pax6 **и развитие глаза**

Гомологию генов и кодируемых ими белков исследуют при сравнении развития гомологичных органов и тканей у представителей разных таксонов животных. Эта закономерность детально изучена, в частности, на примере развития глаза. Анализ гомологии генов-ортологов проводился для гена *Pax6*, одного из основных регуляторов морфогенеза данного органа (Halder et al., 1995; Cvekl, Piatigorsky, 1996; Gehring, 1996, 2011; Anderson et al., 1999; Gehring, Ikeo, 1999; Корочкин, 2002; Fernald, 2004; Гилберт, 2010). Ген *Pax6* относится к многочисленному семейству генов

Pax («paired box»); у мыши он состоит из 16 экзонов, содержит два промотора и не менее шести энхансенров. *Pax6* у разных типов животных отличается распределением цис-регуляторных элементов, а также сайтов инициации транскрипции (Gehring, Ikeo, 1999; Gehring, 2011).

Транскрипционный фактор Pax6 содержит N-концевой парный домен, связанный с гомеодоменом, а также С-концевой (транс-активаторный) домен, обогащенный пролином, серином и треонином (PST-домен). Этот ген кодирует три изоформы белков – транскрипционных факторов: Pax6, Pax6 (5a) и Pax6 (ΔPD). Данные изоформы являются продуктами альтернативного сплайсинга (Gehring, Ikeo, 1999; Fernald, 2004; Gehring, 2011).

Регуляторная роль гена *Pax6* была установлена при изучении формирования глаза. Во время развития глаза позвоночных на переднем конце нейральной пластинки начинает совместно экспрессироваться группа генов *Pax6*, *Six3* и *Rx1*. Эти гены кодируют транскрипционные факторы, участвующие в регуляции дифференцировки тканей глаза. В частности, транскрипционный фактор Pax6 играет важную роль в развитии хрусталика и сетчатки. В опытах В. Геринга и его сотрудников было показано, что эктопическая экспрессия гена *Pax6* дрозофилы вызывала формирование различных структур глаза (хрусталиковых волокон, ганглиозных клеток, мюллеровских клеток, фоторецепторов) в необычном месте (антенны, ноги, крылья) (Halder et al., 1995; Gehring, 2011). Оказалось, что *Pax6* необходим для активации регуляторного каскада генов (*Rx, Otx2, Six3* и др.), которые контролируют процессы формообразования тканей глаза, что послужило основанием причислить этот ген к категории «мастер-генов» (master control gene) (по классификации Я.-Э. Эдстрема и В. Геринга).

Ген *Pax6*, контролирующий развитие глаз у беспозвоночных и позвоночных животных (на примере планарий, нематод, насекомых, головоногих моллюсков, представителей различных типов позвоночных), проявляет высокую степень гомологии (см. Gould, 2002; Корочкин, 2002; Davidson, 2006; Levinton, 2008; Захаров-Гезехус, 2008; Гилберт, 2010; Gehring, 2011). У разных типов животных транскрипты данного гена отличаются интрон-экзонной организацией.

Первоначально была установлена гомология гена *Pax6* у дрозофилы и мыши. Следует отметить, что строение глаз у насекомых и млекопитающих принципиально отличается: у дрозофилы они имеют фасеточное строение, а у млекопитающих – камерное, и их морфогенез существенно отличается. Ген *Pax6* обнаружен у губок – наиболее просто организованных многоклеточных животных, появившихся более 630 млн. лет назад, у которых глаза отсутствуют (Fernald, 2004). Это означает, что формирование генных регуляторных систем в процессе эволюции происходило раньше появления соответствующих органов, и эта закономерность характерна для всех органогенезов.

В исследованиях ряда авторов (Gould, 2002; Корочкин, 2002; Davidson, 2006; Levinton, 2008; Захаров-Гезехус, 2008; Гилберт, 2010; Gehring, 2011) было показано, что гены *Pax6* рыб *(Danio rerio)* и мыши гомологичны на 80%, а белковые продукты (транскрипционные факторы) этого гена – на 97%. Для белковых продуктов *Pax6* мыши и человека, последовательность аминокислот у которых идентична, и гомологичного им гена *ey* (*eyeless*) дрозофилы степень гомологии составляет 94%.

Ген *Pax6* мыши способен обеспечить развитие глаз у дрозофилы и вызвать эктопическое формирование дополнительных глаз на таких структурах как антенны, ноги, крылья (Halder et al., 1995; Gould, 2002; Корочкин, 2002; Davidson, 2006; Levinton, 2008; Захаров-Гезехус, 2008; Гилберт, 2010; Gehring, 2011). Мутации гена *Pax6* у человека затрагивают не только развитие глаз (прежде всего, синтез кристаллинов хрусталика) (Cvekl, Piatigorsky, 1996), но и формирование нервной системы в процессе эмбрионального развития, а также поджелудочной железы (синтез гормонов инсулина, глюкагона, соматостатина) (Andersen et al., 1999).

Важные результаты были получены при изучении мутации *aniridia* гена *Pax6*, который у человека расположен на хромосоме 11 (Davis et al., 2008). Мутация этого гена в гетерозиготном состоянии проявляется в уменьшении размеров глаза, нарушении дифференцировки пигментного эпителия, хрусталика и сетчатки, тогда как в гомозиготном состоянии эта мутация проявляется в отсутствии глаз при летальности зародыша.

Таким образом, несмотря на значительные отличия в формировании глаз в период раннего развития животных, которые принадлежат к разным таксонам, ген *Pax6* и кодируемые им белки обладают высокой степенью гомологии, что свидетельствует о гомологии регуляторных механизмов, управляющих морфогенетическими процессами.

Глава 7. ПОЗИЦИОННАЯ ИНФОРМАЦИЯ, МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОЛЯ, ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ ЛАНДШАФТ

Позиционная информация и морфогены

Эмбриологические исследования неизбежно ведут к представлениям об интегративных факторах регуляции развития и морфогенеза, сформулированным в виде концепций эмбриональных, биологических, или морфогенетических полей, которые стали общепринятыми лишь к концу XX века, после открытия молекул-морфогенов (см. Waddington, 1966; Белоусов, 1970, 1979, 1987, 2005; Beloussov, 1998, 2012; Slack, 1987; Исаева, Преснов, 1990; Гилберт, 2010).

Известно, что поведение нормальной клетки в организме управляется сигналами, исходящими от других клеток или неклеточного окружения. Морфогенетические движения клеток и их дифференцировка определяются положением клетки в системе и ее связями с окружением. Для обозначения этих определяющих судьбу клеток в организме влияний окружения широко используется предложенная Л. Уолпертом (Wolpert 1969, 1981, 1985, 1989) концепция позиционной информации, получаемой клетками и определяющей их судьбу в соответствии с концентрацией диффундирующего сигнала (морфогена).

Основную идею современной концепции позиционной информации впервые высказал немецкий ботаник Фехтинг в 1877 г. В соответствии с этой идеей функции клетки в развитии определяются ее положением в целом организме (см. Barlow, Carr, 1984). В эмбриологии животных эту мысль сформулировал Г. Дриш: проспективное значение эмбриональной клетки – функция ее положения в целом зародыше (Driesch, 1894). Чайлд (Child, 1941) также связывал идею детерминации судьбы клетки с ее положением в целостной системе. Дж. Боннер (1967) писал, что каждая клетка развивающегося организма непрерывно получает информацию о том, где она находится; сигнальные вещества, взаимодействуя с регуляторными последовательностями генома, включают ту или иную подпрограмму развития. Отсюда лишь один шаг до концепции позиционной информации, созданной Уолпертом.

Согласно этой концепции (Wolpert, 1969, 1981, 1985, 1989), пространственные паттерны клеточной дифференцировки возникают в результате получения клетками информации об ее положении в клеточной системе развивающегося зародыша – позиционной информации, ее интерпретации в соответствии с генетической программой и приобретения клеткой определенного позиционного значения. Поддержание приобре-

тенного клеткой позиционного значения вовлекает долговременную клеточную память (Wolpert, 1981). Уолперт считает позиционную информацию скалярной сущностью и полагает, что эта информация составляет основу механизма трансляции генетической информации в пространственные паттерны дифференцировки, трансляции генотипа в фенотип.

Р. Шелдрейк (Sheldrake, 1981) счел употребление терминов «генетическая информация» и «позиционная информация» иллюзорным использованием жаргона теории информации, а сами эти термины – не несущими никакого конкретного смысла, однако их притягательность и распространенность можно объяснить именно абстрактностью и обобщенностью. Оба термина вряд ли стоит трактовать в рамках теории информации, количественно характеризующей передачу информации в техногенных сетях связи; информация понимается скорее в качественном смысле и в контексте общих представлений о передаче и преобразовании информации в биологических системах, более сложно организованных, чем сети связи. Салазар-Сьюдад (Salazar-Ciudad, 2008) полагает, что межклеточные коммуникации, экспрессия сигнальных рецепторов, изменение адгезивных свойств клеток, морфогенетические движения, пролиферация, апоптоз, секреция внеклеточного матрикса непрерывно изменяют ландшафт морфогенетического поля, тем самым ограничивает применимость метафоры позиционной информации.

Тем не менее, Уолперт создал абстрактный концептуальный термин, удачно дополнивший понятие генетической информации. Он разработал и общую, и некоторые частные модели морфогенеза, согласно которым позиционную информацию клеткам дает концентрация морфогена, градиент которого возникает за счет локализации на одной стороне клеточной системы источника морфогена (продуцируемого клетками), а на другой – его стока, где морфоген разрушается или же его концентрация падает ниже действующей. В соответствии с этой концепцией, позиционная информация определяет положение клетки относительно одной или большего числа референтных точек (источников и стоков морфогена). Разные типы клеток характеризуются разным порогом чувствительности к различным концентрациям морфогена (Wolpert, 1969, 1985, 1989).

Диффузия веществ-морфогенов – традиционное допущение реакционно-диффузионных моделей морфогенеза, начиная с классической работы А. Тьюринга (Turing, 1952; Meinhardt, 1982; Murray, 2003; Green, Sharpe, 2015). Диффузионный механизм передачи сигнала в развивающейся биологической системе предполагал и Ф. Крик (Crick, 1970). Такой механизм позиционной сигнализации играет важную роль у растений (Barlow, Carr, 1984).

Уолперт не отрицал и другие механизмы межклеточных взаимодействий, помимо диффузии морфогенов, например, путем непосредственного контакта клеток (Wolpert, 1981). Для развития надклеточных сис-

тем и всего организма животных чрезвычайно важны события, связанные с непосредственным контактом клеток. Само понятие позиционной информации, определяющей судьбу клеток в зависимости от ее положения в системе, конструктивно, а средства передачи этой информации могут быть различными. Роль контактных клеточных взаимодействий в поляризации клетки наглядно выявлена в модельных экспериментах с использованием двух или немногих контактирующих клеток (например, Chow, Poo, 1982; Johnson, Ziomek, 1983). Контактная зависимость морфогенетических процессов опосредована перестройками клеточной поверхности и связанного с ней цитоскелета, что определяет форму и перемещения клеток, организацию внутриклеточных процессов и направление цитодифференцировки (см. Davies, 2013).

Область, в которой все клетки получают ту или иную однородную позиционную информацию, распределяемую относительно одного и того же набора референтных точек – источников и стоков морфогена, – поле действия морфогена, или морфогенетическое поле, которое характеризуется градиентом однородной позиционной информации (Wolpert, 1969, 1985, 1989). Одним из экспериментальных объектов для исследования Уолпертом позиционной сигнализации в ходе развития послужила почка конечности куриного зародыша (Wolpert, Hornbruch, 1981, 1990). Морфогенез почки конечности зависит от функционирования зоны поляризующей активности (продуцирующей белок-морфоген Hedgehog); после трансплантации добавочной зоны поляризующей активности в почку конечности возникает раздвоение скелета этой конечности (Ede, 1978, Wolpert, Hornbruch, 1981) (рис. 28).

К концу XX века идеи полей распределения морфогенов были подтверждены открытиями анизотропного распределения морфогенетически

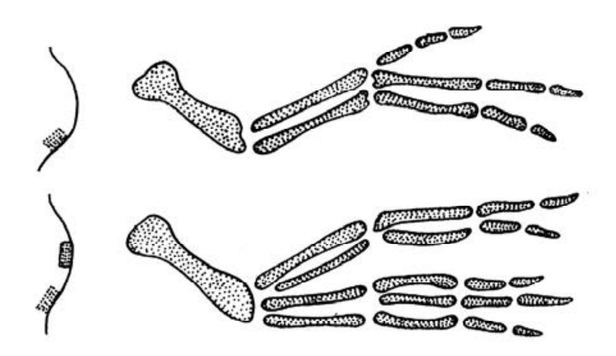


Рис. 28. Изменение морфогенеза скелета конечности куриного эмбриона после трансплантации добавочной зоны поляризующей активности (наверху – нормальное развитие; слева – зоны поляризующей активности почек конечности) (по Ede, 1978; Wolpert, Hornbruch, 1981; изменено).

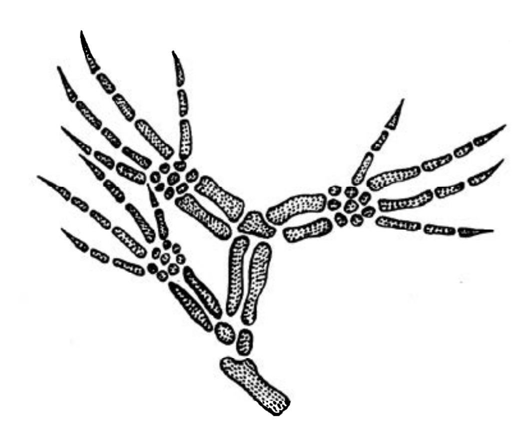


Рис. 29. Влияние ретиноевой кислоты: «утроение» паттерна конечности аксолотля (по Kim, Stocum, 1986).

активных веществ в организме зародышей. В почке конечности куриного зародыша и других позвоночных был выявлен градиент концентрации эндогенной ретиноевой кислоты (Thaller, Eichele, 1987). Экспериментальное воздействие экзогенной ретиноевой кислотой привело к появлению множественных конечностей у аксолотля (Kim, Stocum, 1986) (рис. 29).

Столь эффектное доказательство идеи Уолперта о морфогенетическом поле с градиентом морфогена как носителя позиционной информации вызвало появление восторженной статьи Слэка под названием “We have a morphogen!” в журнале Nature (Slack, 1987). С тех пор появилось немало теоретических и экспериментальных работ о роли градиентов морфогенов в развитии (например, Gregor et al., 2008; Berezhkovskii et al., 2010; Ben-Zvi et al., 2011; Christian, 2012; Umulis, Othmer, 2013; de Robertis, 2014; Green, Sharpe, 2015). Концепция позиционной информации использована для формулировки фундаментальной функции кластерных *Hox*-генов, кодирующих транскрипционные факторы, которые выполняют функции носителей позиционной информации, создавая ее векторный градиент вдоль переднезадней оси билатеральных животных (Akam, 1998a; Holland, 2001; Gould, 2002; Carroll et al., 2005; Корчагина и др., 2010; Бакаленко и др., 2012; Nielsen, 2012; Srivastava, 2015) и специфицируя локализацию будущих структур зародыша (Рэфф, Кофмен, 1986; Minelli, 2015a).

Морфогенетические поля

Появление концепции Уолперта (Wolpert, 1969) ознаменовало новый этап развития теории морфогенетических полей, сигнальная система

которых получила современное по форме наименование позиционной информации. Эта концепция не вызывала у большинства биологов реакции отторжения, нередко проявляющейся по отношению к терминологии «морфогенетического поля», и многие авторы в своих теоретических построениях и моделях охотно использовали представление о позиционной информации, избегая упоминания о морфогенетических полях (например, Meinhardt, 1982; Рэфф, Кофмен, 1986; Hartenstein, Chipman, 2015).

Экспериментальным подтверждением идеи морфогенетического поля с неоднородным распределением морфогена послужили исследования на дрозофиле, выявившие в яйцеклетке градиент концентрации белка Bicoid, который определяет переднезаднюю полярность будущего организма (Driever, Nüsslein-Volhard, 1988; Nüsslein-Volhard, 1991; Spirov et al., 2009) и других транскрипционных факторов. Представления о морфогенетических полях действия генов получили экспериментальное подтверждение также в опытах В. Геринга с эктопической экспрессией гена *eyless* дрозофилы и формированием глаз на крыльях, ногах, антеннах (см. Gehring, 1996, 2011). Таким образом, концепции позиционной информации и морфогенетического поля неразделимы.

Морфогенетические поля зиготы и зародыша

Идея морфогенетических полей – областей зародыша, формирующихся до морфологического обособления зачатка того или иного органа, возникла задолго до установления роли генов в морфогенетических процессах (см. Waddington, 1934; Гурвич, 1944; Белоусов, 1970, 1979, 1987). Очевидно, что морфогенетические поля действия генов в современном понимании отличаются от постулированных ранее полей, поскольку в концепциях прежних авторов не рассматривалась генная активность (Davidson 1993, 1987; Gilbert et al., 1996; Гилберт и др., 1997; Davidson, Erwin, 2006, 2010).

По определению Гилберта с соавторами (Gilbert et al., 1996; Гилберт и др., 1997), морфогенетических поля представляют собой дискретные единицы эмбрионального развития, которые создаются в результате взаимодействий генов и их продуктов в пределах определенных регионов зародыша. Изменения свойств морфогенетических полей влекут за собой изменения фенотипа и ведут к эволюционным новшествам. Декларируемый Гилбертом с коллегами новый синтез эволюционной биологии и биологии развития (Gilbert et al., 1996; Гилберт и др., 1997) заключается в признании ведущей эволюционной роли морфогенетических полей. Предполагается, что морфогенетические поля – промежуточное звено, связывающее генотип с фенотипом. Гомологичные морфогенетические поля существуют как в пределах одного и того же организма (серийная гомология процесса), так и у разных организмов (ортологичная

гомология) (Gilbert et al., 1996; Гилберт и др., 1997). Таким образом, морфогенетическим полям придается важное значение в понимании механизмов взаимосвязи онтогенетических и эволюционных процессов.

Пространственная организация яйцеклетки

Данные экспериментальной эмбриологии, обобщенные в классических книгах Вильсона (Wilson, 1925), Моргана (Morgan, 1927), Равена (1964) и Дэвидсона (Дэвидсон, 1972; Davidson, 2006), свидетельствуют о локализации в цитоплазме яйцеклетки морфогенетических детерминантов, определяющих осевую организацию будущего зародыша и судьбу отдельных бластомеров или их групп. Этот фактор целостности обычно рассматривается в эмбриологии как анизотропное биологическое поле, контролирующее ход развития и преобразуемое в процессе развития (Гурвич, 1944; Светлов, 1978; Белоусов, 1979, 1987, 2005; Goodwin, 1982; Шишкин, 2006).

Кортикальный слой яйцеклетки – носитель информации о пространственной организации будущего организма в виде системы морфогенетических факторов, детерминирующих полярность и симметрию яйца и контролирующих начальные этапы формирования структуры зародыша (Davidson, 2006; Гилберт 2010). Система осевых координат, «регуляторная архитектура» яйца и зародыша создается неоднородным распределением в ооплазме материнских мРНК и белковых факторов транскрипции, обеспечивающих дифференциальную активность зиготических генов-мишеней в ядрах, локализованных в разных частях развивающегося зародыша (Davidson, 2006). «Материнская анизотропия» яйца и зародыша (Davidson, 2006) представляет собой морфогенетическое поле, которое доносит осевой паттерн до взрослого организма. Данные о морфогенетических полях зиготы и зародыша, несущих первичную морфогенетическую информацию, важны для понимания механизмов взаимосвязи генотипа и фенотипа, онтогенетических и эволюционных процессов (Gilbert et al., 1996; Гилберт и др., 1997).

У многоклеточных животных анимально-вегетативная полярность яйца и переднезадняя ось будущего организма устанавливается на одноклеточной стадии, как правило, в ходе оогенеза, но иногда после слияния гамет, как у нематоды *Caenorhabditis elegans* (Goldstein, Hird, 1996; Munro, Bowerman, 2009). Становление полярности ооцита обеспечивается многими факторами, включая его положение в яичнике, участие в оогенезе вспомогательных клеток, например, трофоцитов и фолликулярных клеток, распределение цитоплазматических структур и желтка, региональную экспрессию генов в ходе оогенеза (Nüsslein-Volhard, 1991; Hartenstein, Chipman, 2015; Chipman, 2015). Поляризация яйцеклетки осуществляется главным образом опорно-двигательной системой клетки (цитоскелетом); при этом требуется участие и актина, и тубулина, а

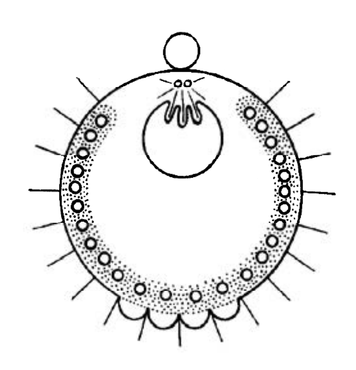


Рис. 30. Поляризованность ооцита морской звезды (по Schröder, 1985).

также множества связанных с ними молекул и сигнальных систем клетки (Li, Bowerman, 2010). Актиновые филаменты и микротрубочки как компоненты цитоскелета конвертируют начальную асимметрию в клеточную полярность; поляризованная клеточная архитектоника определяет установление эмбриональных осей будущего организма (Mullins, 2009; Li, Bowerman, 2010; Hartenstein, Chipman, 2015).

При детальном исследовании морфологии ооцитов очевидна морфологическая поляризованность всей яйцевой клетки, включая ее ядро, кортикальный слой с кортикальными гранулами и положение центриоли (Schröder, 1985) (рис. 30).

Осевая полярность ооцитов животных, а также зиготы фукоидных бурых водорослей проявляется в ионных потоках, генерирующих внеклеточное электрическое поле (Nuccitelli, 1984). Анимальный и вегетативный полюс яйцеклеток дрозофилы и лягушки различаются вектором направления трансклеточных ионных потоков и генерируемых ими внеклеточных электрических полей (Nuccitelli, 1984) (рис. 31).

Непосредственно вслед за контактом гамет возникает электрический ток активации, слияние мембран спермия и яйца вызывает освобождение ионов кальция с резким подъемом их концентрации (Kline, Nuccitelli, 1985; Cheer et al., 1987) (рис. 32). Проникновение спермия инициирует кортикальную реакцию яйцеклетки с экзоцитозом кортикальных гранул и отделением оболочки оплодотворения (предотвращающей полиспермию), а затем ооплазматическую сегрегацию (Vacquier, 1981; Kline, Nuccitelli, 1985; Cheer et al., 1987).

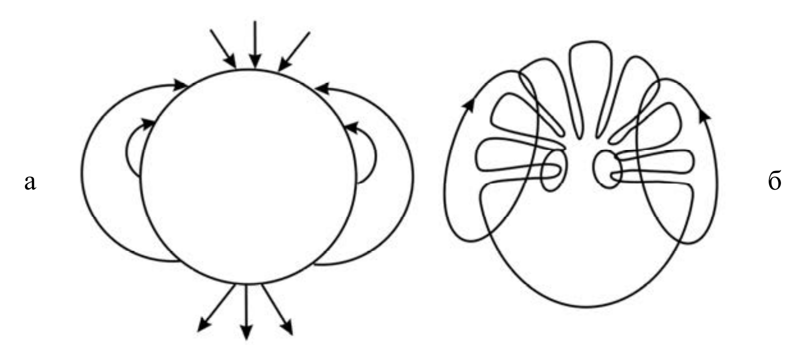


Рис. 31. Электрическое поле ооцитов животных: а – лягушки *Xenopus laevis*; б – насекомого *Cecropia* (Nuccitelli, 1984, изменено).

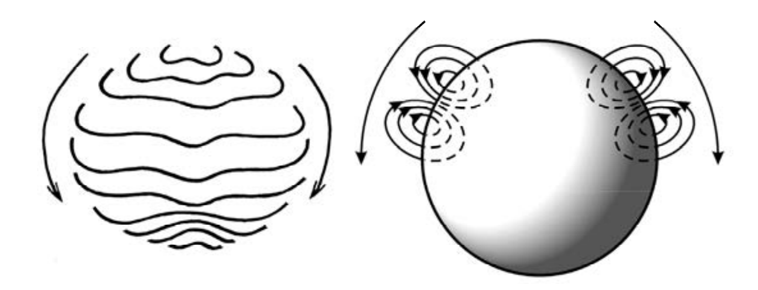


Рис. 32. Пространственно-временна́я динамика полей яйца после контакта и слияния гамет: волна освобождения ионов кальция в яйце медаки (слева) (Cheer et al., 1987); волна тока активации в кортексе яйца шпорцевой лягушки (справа) (Kline, Nuccitelli, 1985; изменено).

Морфогенетическое поле, устанавливаемое материнскими детерминантами и определяющее осевую полярность будущего организма, лучше всего изучено у *Drosophila melanogaster.* Показано, что концентрации материнских продуктов гомеобокс-содержащих генов *bicoid*, *caudal, nanos*, *dorsal* определяют переднезаднюю и дорсо-вентральную полярность яйца (см. Гилберт, 2010; Hartenstein, Chipman, 2015; Chipman, 2015).

Локализация продуктов гена *bicoid* в ооплазме ооцита и раннего зародыша детерминирует развитие передней части (головы и торакса) будущего организма (Driever, Nüsslein-Volhard, 1988; Nüsslein-Volhard, 1991; Gregor et al., 2008; Spirov et al., 2009; Hartenstein, Chipman, 2015). Мутация этого гена у дрозофилы блокирует развитие головного конца тела. В ходе формирования яйцеклетки в яичнике мРНК гена *bicoid* поступает в растущий ооцит из трофоцитов и локализуется строго на полюсе яйца, соответствующем передней части будущего организма. Здесь же мРНК транслируется с образованием белкового продукта Bicoid, концентрация которого наиболее высока на переднем конце и резко падает по направлению к заднему. У раннего зародыша наблюдается отчетливый переднезадний градиент концентрации белка Bicoid (рис. 33). Максимальная концентрация в ооплазме мРНК и затем белкового продукта гена *bicoid* (транскрипционного фактора) на одном из полюсов ооцита определяет положение будущей головы зародыша и имаго (Driever, Nüsslein-Volhard, 1988; Nüsslein-Volhard, 1991). Подобным образом в ооците и раннем зародыше дрозофилы выявлены градиенты распределения РНК и белка гена *nanos*, одного из детерминантов развития задней части тела дрозофилы (рис. 33).

Ген *nanos* выполняет эволюционно консервативную роль в установлении переднезадней оси тела. Гомологи *nanos* найдены у многих Metazoa; у книдарий этот ген также экспрессируется в задней части развивающегося зародыша. Градиенты Bicoid и Nanos ведут к формирова-

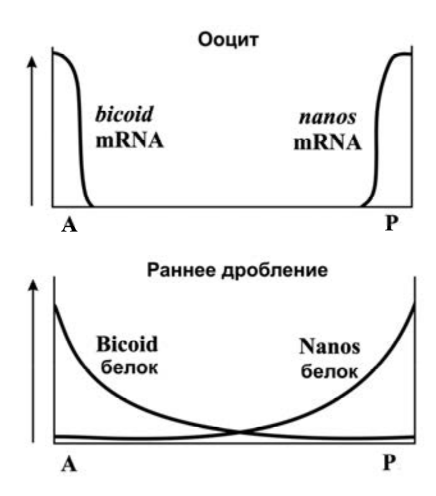


Рис. 33. Градиенты концентрации информационной РНК и белков генов *bicoid* и *nanos*, детерминирующие переднезаднюю полярность зародыша дрозофилы (Gilbert, 2000, с изменениями).

нию градиентов материнских транскриптов генов *hunchback* и *caudal*; все эти четыре градиента запускают каскад экспрессии зиготических генов (Hartenstein, Chipman, 2015). Таким образом, градиентная система материнских морфогенов, в частности, соотношение концентрации белков Bicoid и Nanos, определяет переднезаднюю ось зародыша и взрослой дрозофилы.

Известно, что у дрозофилы РНК гена *bicoid* поступает в растущий ооцит из трофоцитов. Продукт гена *nanos* транспортируется из фолликулярных клеток (Hartenstein, Chipman, 2015; Chipman, 2015). У большинства животных синтез подобных белков-морфогенов осуществляется самим ооцитом, особенно при солитарном (без участия вспомогательных клеток) оогенезе. Однако и в тех случаях, когда молекулы РНК поставляются в ооцит вспомогательными клетками, как это происходит у дрозофилы, пространственное распределение молекулярной информации, задающей осевую полярность будущего организма, контролируется структурными и моторными компонентами цитоскелета ооцита.

Внутриклеточный транспорт информационных РНК генов, определяющих анимально-вегетативный градиент в ооплазме, осуществляется с помощью кинезина и динеина, моторных белков системы микротрубочек ооцита (Pokrywka, Stephenson, 1991; Lerit, Gavis, 2011; Hartenstein, Chipman, 2015). При этом нетранслируемые последовательности 3′-конца информационной РНК *bicoid* связываются посредством белка Staufen с динеином, моторным белком, перемещающимся по микротрубочке к ее минус-концу, который располагается у центриоли, и потому транс-

портирующим *bicoid* РНК к переднему полюсу ооцита (Ferrandon et al., 1994). Перемещение к заднему полюсу ооцита информационных РНК генов *oscar* и *staufen* обеспечивается связыванием нетранслируемых последовательностей их 3′-конца молекулы с кинезином, другим моторным белком микротрубочек, который перемещается к плюс-концу микротрубочек, перенося соответствующий молекулярный груз (Ferrandon et al., 1994; Becalska, Gavis, 2009). Устойчивая локализация РНК *bicoid* на переднем полюсе ооцита, а на заднем полюсе – РНК *nanos*, *oskar* и *germ cell-less*, как и других компонентов полярной плазмы яйца дрозофилы, обеспечивается связыванием с актиновыми филаментами цитоскелета (Lantz et al., 1999; Hartenstein, Chipman, 2015). Белок Oskar локализуется в полярных гранулах на заднем полюсе ооцита дрозофилы и определяет судьбу клеток половой линии вместе с другими компонентами этих гранул.

Подобным образом продукты ряда генов, кодирующих важнейшие для раннего развития транскрипционные факторы и другие морфогены, в ходе оогенеза упорядоченным образом распределяются в ооплазме, в результате чего создается внегеномная развертка морфогенетической информации, которая определяет пространственно-временнóй порядок событий раннего развития. Ген *caudal* детерминирует положение заднего конца развивающегося зародыша. Участие белкового продукта этого гена в установлении полярности найдено не только у других членистоногих, но и у представителей других типов животных. Экспериментальное выключение экспрессии гена *caudal* приводит к полному разрушению сегментации и прекращению роста зародыша позади челюстных сегментов. Градиент материнского морфогена Dorsal, белкового продукта гена *dorsal* (транскрипционного фактора), который определяет дорсовентральный градиент, создается в результате взаимодействия фолликулярных клеток с ооцитом, при участии продуктов других генов (см. Hartenstein, Chipman, 2015).

Таким образом, цитоскелет яйца функционирует как интегральный морфогенетический детерминант, направляющий и поддерживающий анизотропию молекулярной информации, распределенной в ооплазме и детерминирующей осевую полярность яйца и будущего организма (Исаева, 1994; Isaeva et al., 2008). Создаваемая в ходе оогенеза регуляторная информация доносит осевую архитектуру яйцеклетки до взрослого организма, определяя его осевой паттерн.

Преемственность осевого паттерна: от яйца и зиготы к взрослому организму

Между осевым паттерном яйца и взрослого животного существует преемственность. При мутации dicephalic у дрозофилы возможно зеркальное удвоение переднего конца личинки, обусловленное предшествующим рас-

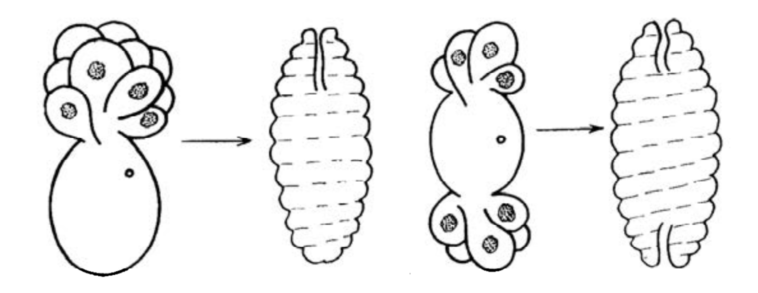


Рис. 34. Детерминация осевого паттерна личинки дрозофилы организацией комплекса ооцит-трофоциты (см. текст).

положением трофоцитов двумя группами на обоих полюсах ооцита, тогда как в норме все трофоциты связаны лишь с одним, будущим передним полюсом ооцита (Lohs-Shardin, 1982; Sander, 1984) (рис. 34).

Морфогенетические поля ооплазмы определяют, в частности, и направление закрученности раковины у брюхоногих моллюсков. У этих животных направление смещения бластомеров в раннем спиральном дроблении (по часовой стрелке или против нее) совпадает с ориентацией закрученности раковины, о чем писал еще Т. Морган в своей книге по экспериментальной эмбриологии (Morgan, 1927) (рис. 35).

У наземной брюхоногой улитки *Partula suturalis* существуют популяции с правозакрученными (декстральными) и левозакрученными (синистральными) раковинами; при скрещивании улиток таких популяций направление закрученности раковины у всех потомков первого поколения было таким же, как у их матерей (Murray, Clarke, 1966). При скрещивании улиток первого поколения все потомство следующего поколения имело левозакрученные раковины. Таким образом, направление витка генетически детерминировано, закручивание раковины налево у этого вида доминирует, но фенотип животного и его раковины определяется генотипом матери (Murray, Clarke, 1966). Это явление традиционно рассматривается как «материнский эффект», т.е. контроль экспрессии генов зародыша генными продуктами материнского происхождения, запасенными в ооплазме.

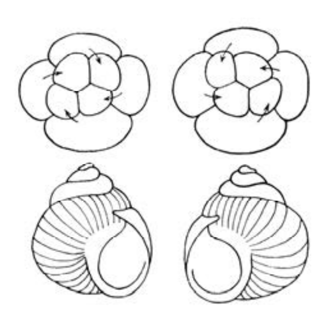


Рис. 35. Преемственность направления смещения бластомеров при третьем делении дробления и закручивания раковины у прудовика (по Morgan, 1927).

Показано, что сигнальный путь nodal, функционирующий при становлении лево-правой асимметрии у вторичноротых и включающий экспрессию двух основных

генов – *nodal* и *Pitx*, вовлечен и в детерминацию направления закручивания раковины у брюхоногих улиток (Grande, Patel, 2009; Kuroda et al., 2009; Wanninger, Wollesen, 2015). Экспрессия генов *nodal* и *Pitx* у зародышей гастропод асимметрична и коррелирует с их декстральностью или синистральностью: у *Lottia gigantea* с декстральным планом строения оба гена экспрессируются на правой стороне эмбриона, а у синистральных зародышей *Biomphalaria glabrata* – на левой стороне (Grande, Patel, 2009). При подавлении у зародышей *Biomphalaria* сигнализации nodal до стадии бластулы ингибируется экспрессия гена *Pitx*, который кодирует соответствующий транскрипционный фактор. При этом у ювенильных улиток развивается трубчатая раковина, тогда как более позднее воздействие (на стадии трохофоры) не препятствует развитию нормальной раковины (Grande, Patel, 2009).

Как уже упомянуто, у прудовика *Lymnaea* декстральное или синистральное закручивание раковины совпадает с соответствующим направлением смещения квартета бластомеров при третьем делении – по часовой стрелке (декстральным направлением) или против часовой стрелки (синистральным). Путем экспериментальных микроманипуляций на эмбрионах *Lymnaea stagnalis* удалось изменить генетически детерминированное направление смещения бластомеров при третьем делении дробления на противоположное (Kuroda et al., 2009). Были получены искусственно «декстрализованные» и «синистрализованные» улитки с реверсией плана строения, включающей направление спирального закручивания раковины, однако план строения потомства таких самок соответствовал их генотипу, а не экспериментально измененному фенотипу (Kuroda et al., 2009).

Создаваемая в ходе оогенеза пространственная организация ооплазмы преформирует у большинства билатеральных животных анимально-вегетативную, а иногда – и дорсо-вентральную ось организма. Дорсо-вентральная полярность животных может быть детерминирована до оплодотворения, в ходе оплодотворения либо в ходе раннего дробления (Равен,1964; Chipman, 2008, 2015; Raff, Raff, 2009). Между разными таксонами животных существуют значительные различия во времени формирования дорсо-вентральной оси симметрии будущего организма; иногда эти различия отмечены даже у родственных организмов. Например, у морских ежей с личиночным развитием только анимально-вегетативная ось определяется материнским эффектом, тогда как дорсо-вентральная (орально-аборальная) ось и затем лево-правая ось детерминируются в ходе раннего эмбрионального развития. У морского ежа *Heliocidaris erythrogramma* с прямым развитием не только анимально-вегетативная, но и дорсо-вентральная ось определяются до оплодотворения, под материнским контролем (Raff, Raff, 2009). В таком случае обилие желтка в яйцеклетках, обеспечивающее ускоренное лецитотрофное развитие, вов-

лекает гетерохронию, включающую детерминацию в ходе оогенеза переднезаднего и дорсо-вентрального осевого паттерна, а иногда и латеральной асимметрии плана строения. Эволюционные преобразования плана строения тела сопряжены с реорганизацией ооплазмы – пространственными изменениями локализации морфогенетически значимых молекулярных комплексов в цитоплазме яйцеклетки (Иванов, 1937; Иванова-Казас, 1995; Гилберт, 2010).

В зависимости от сроков становления проморфологии яйца и ее особенностей (градиентный или мозаичный характер и возможность регуляции при удалении части) эмбриологами было принято различать детерминированный (мозаичный) и регулятивный типы развития. При всей относительности такого разграничения, само явление ооплазматической локализации факторов, определяющих судьбу бластомеров в ходе дробления, достаточно универсально. Если яйцеклетка и зигота несет анимально-вегетативную полярность, а дорсо-вентральная устанавливается в ходе дробления, разделение первых двух или четырех бластомеров ведет к развитию двух или четырех нормальных или почти нормальных зародышей соответственно меньшего размера, как это было неоднократно показано на видах морских ежей с личиночным развитием.

Ооплазматическая сегрегация – процесс интегрального поляризованного сокращения кортикального слоя яйца вслед за слиянием гамет – усиливает анимально-вегетативную полярность, обособляя полярную плазму у представителей Lophotrochozoa и Ecdysozoa, и устанавливает дорсо-вентральную полярность у некоторых хордовых животных. Полярная плазма, состав которой наиболее изучен у дрозофилы, помимо функции детерминации полярности будущего организма, выполняет важную роль в спецификации первичных половых клеток.

У исследованных представителей хордовых становление и ориентация дорсо-вентральной оси яйцеклетки и развивающегося организма определяется проникновением спермия и внесением им центриоли в ооплазму. У морских ежей и амфибий место вхождения спермия отличается локальными особенностями рельефа поверхности (Picheral, Charbonneau, 1982; Kirschner et al., 1980) (рис. 36).

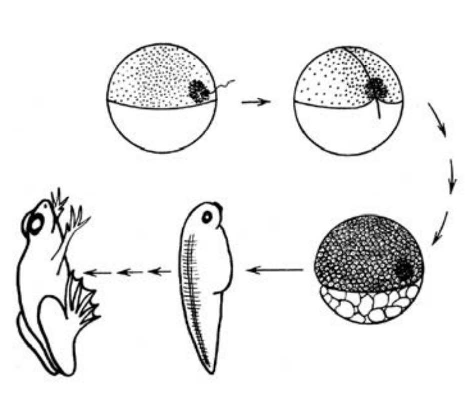


Рис. 36. Преемственность осевого паттерна в онтогенезе лягушки (по Kirschner et al., 1980).

У амфибий кортекс осемененного яйца перестраивается со смещением пигмента в анимальную область и поворотом

кортикального слоя относительно внутренней ооплазмы с формированием серого серпа (см. Kirschner, Gerhart, 2005). Этот процесс зависит от ориентации плюс-концов микротрубочек по направлению к серому серпу и будущей дорсальной стороне зародыша (Weaver, Kimelman, 2004) и вовлекает асимметричное сокращение и смещение кортикальной актиновой сети (Mullins, 2009). Формирование серого серпа и установление дорсо-вентральной полярности у лягушки, определяемые локализацией центриоли спермия и образуемого ею спермастера, приводят к различиям организации и судьбы первых двух бластомеров в зависимости от прохождения борозды деления первого дробления. Если эта борозда проходит через серый серп, оба возникающих бластомера оказываются эквипотенциальными и способными после их разделения образовать зародыши уменьшенного размера. Если же борозда первого деления отделяет бластомер, содержащий серый серп, от второго бластомера, лишенного этой структуры, то после их изоляции друг от друга только бластомер с серым серпом способен к дальнейшему развитию, тогда как второй образует лишь группу вентральных клеток (см. Kirschner, Gerhart, 2005; Гилберт, 2010). Таким образом, память о месте вхождения спермия сохраняется при дроблении в виде локальных особенностей рельефа поверхности и дорсо-вентральной полярности дефинитивного животного.

Центрифугирование оплодотворенных яиц лягушек до начала дробления, в период становления осевого паттерна, вызывало возникновение множества зародышей с раздвоенной головной частью тела (Касьянов, 1968; Black, Gerhart, 1986) (рис. 37).

Следовательно, перераспределение и локализация в ооплазме факторов, определяющих судьбу регионов яйца и будущего зародыша, зависят от поляризации системы цитоскелета и происходят не только в процессе оогенеза, но и после контакта гамет в ходе ооплазматической сегрегации, а также в раннем развитии. Морфогенетические поля яйца и зиготы – носители скалярного и векторного поля концентрации материнских молекул-морфогенов, прежде всего продуктов гомеобокс-содержащих генов.

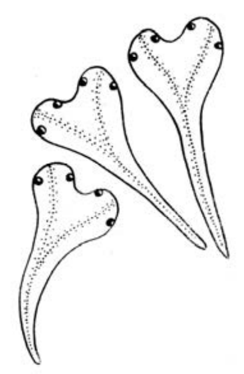


Рис. 37. Раздвоение головной части тела личинок лягушки *Xenopus laevis* после центрифугирования яйцеклеток перед началом дробления (по Black, Gerhart, 1986).

Таким образом, фундаментальные преобразования на клеточном уровне в ходе оогенеза и раннего развития животных детерминируют осевые координаты будущего организма. Ооплазма яйца и зиготы обладает долговременной необратимой эпигенетической памятью, подобной импринтингу (Исаева, 1994; Isaeva et al., 2008). Генная экс-

прессия в процессе оогенеза создает внутриклеточное, кортикальное морфогенетическое поле – внегеномную развертку информации, которая детерминирует пространственно-временнóй порядок событий раннего развития. Цитоскелет яйца и зиготы как интегральный морфогенетический детерминант обеспечивает неоднородное распределение молекулярной информации, определяющей осевую полярность яйца и будущего организма. Трансформации симметрии яйца дают наиболее крупномасштабную морфогенетическую информацию, детерминирующую осевой паттерн будущего организма (Isaeva, 2014a).

Каскад генного контроля последовательных событий развития

Каскад контроля раннего развития гомеобокс-содержащими генами, инициируемый при формировании яйцеклетки в яичнике, наиболее детально продемонстрирован на дрозофиле (Driever, Nüsslein-Volhard, 1988; Nüsslein-Volhard, 1991; Hartenstein, Chipman, 2015; Chipman, 2015). Анимально-вегетативный и дорсо-вентральный градиенты концентрации белковых продуктов нескольких материнских регуляторных генов – детерминантов переднего и заднего конца, спинной и брюшной частей тела – дают информацию геному клеток об их положении в системе зародыша, регулируя последующую экспрессию генов зародыша и его разделение на зоны специфической морфогенетической активности. У дрозофилы первые деления ядер не сопровождаются дроблением ооплазмы, к концу восьмого деления ядра образуют синцитиальную бластодерму; в зависимости от положения ядер в осевой системе зародыша они оказываются под воздействием различных сочетаний и концентраций материнских морфогенов. Разделение бластодермы на мозаику полей (зачатков), соответствующих будущим зародышевым листкам, тканям и органам, происходит после ее целлюляризации.

Транскрипционный фактор Bicoid, сконцентрированный на переднем конце зародыша, перемещается из цитоплазмы в ядра клеток и там взаимодействует с регуляторными последовательностями гена *hunchback* (*hb*) (группа gap-генов), контролируя его активность зависимым от концентрации регуляторного белка путем (Driever, Nüsslein-Volhard, 1988; Nüsslein-Volhard, 1991). Активация транскрипции этого гена инициирует запуск каскада сегментации (Nüsslein-Volhard, 1991; Гилберт, 2010). Белковый продукт гена *hunchback* определяет первичное расчленение тела зародыша на три региона, различающихся набором функционирующих генов.

К группе gap-генов принадлежат также гены *Krüppel* (*Kr*), *knirps* (*kni*) и *giant* (*gt*). Экспрессия генов этой ступени регуляторного каскада контролируется материнскими морфогенами, а также ингибирующими взаимодействиями между этими генами. Так, высокая концентрация материнского фактора Bicoid в передней части эмбриона прямо активирует

ген *hunchback*, тогда как продукт гена *Krüppel*, который экспрессируется в задней части эмбриона, действует как репрессор (Hartenstein, Chipman, 2015).

Белковые продукты gap-генов в свою очередь контролируют активность регуляторных генов следующего уровня – генов группы pair rule, например, *Even skipped* (*Eve*), *Odd skipped* (*Odd*), *Fushi tarazu* (*Ftz*), что проявляется в образовании семи полос локализации продуктов этих генов и знаменует начало сегментации (рис. 38).

В процессе вычленения зачатков бластодермы экспрессия гена *hb* охватывает пост-оральные головные и торакальные сегменты развивающегося зародыша. В тораксе и передней части абдомена экспрессируется ген *Kr*, в передней и задней части абдомена – ген *kni* (Hartenstein, Chipman, 2015). Ген *gt* активируется в нескольких доменах, расположенных как впереди, так и позади бластодермы. Три гена группы gap, *orthodenticle* (*otd*), *empty spiracles* (*ems*) и *buttonhead* (*btd*), экспрессируются в передней, преоральной части головы (Hartenstein, Chipman, 2015).

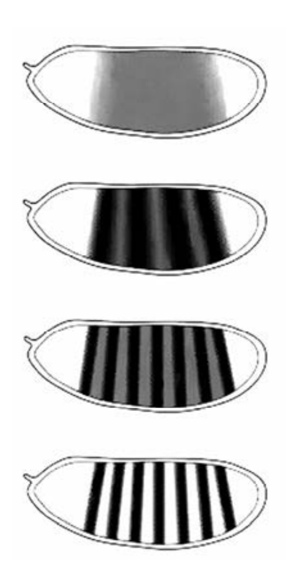


Рис. 38. Схема последовательной регионализации экспрессии гена *hunchback* (gap-гены) и генов парности сегментов (pair-rule) (сверху вниз) (по Gilbert, 2000, с изменениями).

Потеря функции каких-либо генов группы pair rule ведет к исчезновению соответствующих сегментов (см. Hartenstein, Chipman, 2015). Функционирование этих генов определяет экспрессию или сайленсинг генов очередной ступени – генов полярности сегментов, например, *Engrailed* (*En*), *Hedgehog* (*Hh*), *Wingless* (*Wg*). Эффект этих генов проявляется у дрозофилы в возникновении 14 полос первичной сегментации (Nüsslein-Volhard, Wieschaus, 1980; Hartenstein, Chipman, 2015). Последующий этап данного каскада – детерминация различий между сегментами – зависит от функционирования селекторных гомеозисных генов-переключателей комплексов Antennapedia и Bithorax; этим завершается сегментационный каскад экспрессии гомеобокс-содержащих генов у *Drosophila*.

Таким образом, селекторные *Hox*-гены интерпретируют позиционную информацию, получаемую каждой клеткой поля от белков-морфогенов, носителей этой информации (Hartenstein, Chipman, 2015). Пространственная и временнáя колинеарность экспрессии генов *Hox*-кластера в ходе эмбриогенеза дает пространственно упорядоченную (векториальную) информацию о порядке расположения различных частей тела вдоль его

переднезадней оси. Белковые продукты *Hox*-генов, транскрипционные факторы, служащие материальными носителями этой позиционной информации, предопределяют реализацию локальных морфогенетических подпрограмм, отвечающих за создание определенных структур зародыша, т.е. молекулярный *Hox*-код задает порядок расположения структур в осевых координатах развивающегося зародыша.

Построение дорсо-вентрального паттерна эмбриона дрозофилы базируется на градиенте распределения материнского фактора транскрипции Dorsal. Этот градиент инициирует включение генной регуляторной сети, управляющей дифференцировкой мезодермы, нейрогенной эктодермы и дорсальной эктодермы при гаструляции (Levine, Davidson, 2005). Взаимодействие набора из трех факторов транскрипции, Dorsal, Twist и Snail инициирует активность сети построения дорсо-вентрального паттерна, включающую около 60 генов. Высокий уровень градиента белка Dorsal активирует несколько генов в вентральной области: *twist* (*twi*), *snail* (*sna*) и др. Низкие уровни градиента Dorsal активируют ген *short gastrulation* (*sog*) в нейрогенной эктодерме, а также репрессируют *tolloid* (*tll*), *zerknuellt* (*zen*) и *decapentaplegic* (*dpp*), которые требуются для формирования паттерна дорсальной эктодермы. По мере развития сети генных взаимодействий существенно усложняются; дефинитивные ткани каждой эмбриональной территории начинают возникать в начале гаструляции (см. Levine, Davidson, 2005; Hartenstein, Chipman, 2015; Chipman, 2015).

Сходный каскад с последовательным включением регуляторных генов и соответствующим расчленением бластодермы выявлен у исследованных представителей других членистоногих. Показано, в частности, что у *Strigamia maritime*, представителя многоножек (Myriapoda), в раннем эмбриогенезе сначала функционируют материнские гены, определяющие полярность (по крайней мере, ген *cad*), затем гены gap (*hb*, *Kr*, *kni*, *ems*), pair-rule (*Eve*), полярности сегментов (*En*) (Brena, 2015). На стадии первичной сегментации, когда у дрозофилы наблюдаются 14 полос экспрессии генов полярности сегментов, у этого вида многоножек (во взрослом состоянии имеющего от 43 до 53 несущих ноги сегментов), выявлено около 45 полосок экспрессии гена *Engrailed* (см. Brena, 2015).

Таким образом, градиенты концентрации белковых продуктов материнских регуляторных генов дают информацию геному клеток об их положении в системе зародыша, детерминируя клеточную судьбу; иерархия регуляторных генов, кодирующих транскрипционные регуляторы, управляет развитием, определяя осевую организацию и сегментацию развивающегося организма (см. Carroll et al., 2005; Ferrier, 2010; Durston, 2012; Hartenstein, Chipman, 2015).

Сходство гомеобокс-содержащих генов в контроле переднезаднего, дорсо-вентрального и проксимо-дистального паттерна тела и конечнос-

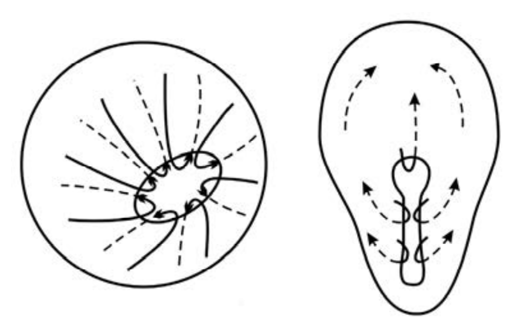


Рис. 39. Морфогенетические поля миграции клеток при гаструляции лягушки (слева) и куриного зародыша (по Gilbert, 2000, изменено).

тей у насекомых и позвоночных свидетельствует о консерватизме генных модулей и их важной роли в эволюции и индивидуальном развитии. Контроль над экспрессией регуляторных генов в эмбриогенезе не ограничивается каким-либо одним механизмом, включая градиенты морфогенов, сигнальные пути, реорганизацию хроматина, работу удалённых и геноспецифичных промоторов.

В процессе гаструляции создаются поля морфогенетических перемещений клеток. Пути миграции клеток при гаструляции (см. Gilbert, 2010; Davies, 2013) и последующих морфогенетических процессах визуализируют морфогенетические векторные поля (рис. 39).

В ходе развития происходит подразделение зародыша на территории, субтерритории и «прогениторные поля», из которых формируется данная часть тела животного. Это подразделение обеспечивается отдельными путями и контурами генной регуляторной сети, состоящими из нескольких генов и *cis*-регуляторных элементов (Davidson, 2006). Многие ключевые регуляторы развития, участвующие в регуляторных каскадах, которые определяют осевой план организма, сегментацию и развитие различных органов, принадлежат к ограниченному числу эволюционно консервативных семейств генов. В ходе развития билатеральных животных функционируют высоко консервативные генетические программы. Нередко гены, кодирующие ключевые регуляторные белки, экспрессируются в сходных пространственных областях развивающихся зародышей дрозофилы и мыши (см. Wray, 2003; Kirschner, Gerhart, 2005).

Рис. 40 демонстрирует региональную экспрессию ряда важнейших для морфогенеза генов, включая гены кластеров *Hox/HOM*, другие гомеобокс-содержащие гены (многие из которых упомянуты выше), а также ген *BMP4*, кодирующий одну из сигнальных молекул BMP4. Ряд гомеобокс-содержащих генов, не входящих в *Hox* и *HOM*-кластеры, как, например, *En (engrailed)*, *Otx* (*orthodenticle*), *Msx* (*muscle segment*), кодиру-

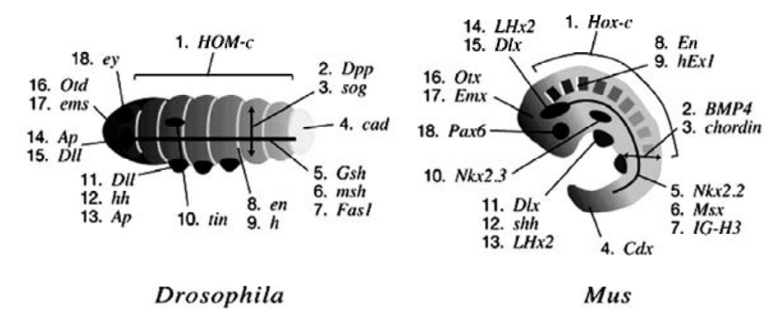


Рис. 40. Локализация экспрессии ключевых генов у зародышей дрозофилы и мыши; гены-ортологи отмечены одинаковыми номерами (по Wray, 2003).

ют транскрипционные факторы, которые экспрессируются в сходных областях развивающихся зародышей дрозофилы и мыши (Wray, 2003; Kirschner, Gerhart, 2005). Ген *pax*6 (*paired box gene 6*) мыши и его гомолог *ey* (*eyeless*) у дрозофилы), а также гомологи у планарий и головоногих моллюсков – высоко консервативные гены, регулирующие развитие негомологичных, морфологически различных глаз этих животных путем регуляции экспрессии набора более специфичных генов. Ген *orthodenticle* контролирует сегментацию зачатка головы у дрозофилы, его гомолог определяет развитие передней головной части зародыша мыши (см. Wray, 2003; Захаров-Гезехус, 2008) (рис. 40).

Значительная часть исследований морфогенетических полей выполнена на примере морфогенеза конечностей насекомых и позвоночных (Wolpert, Hornbruch, 1981, 1990; De Robertis, 2008; Рэфф, Кофмен, 1986; Гилберт, 2010; Jockush, Smith, 2015). Поле почки конечности позвоночных поляризовано вдоль переднезадней и дорсо-вентральной оси, т.е. эта структура, как и морфогенетические поля других органов, обладает анизотропией. Анизотропия поля конечности и локализация зачатков ее отдельных структур определяется экспрессией *Hox*-генов.



Рис. 41. Развитие множественных задних конечностей лягушки *Hyla* в результате заражения паразитическими трематодами (по Gilbert, 2000).

Поле почки конечности способно к регуляции. Было показано, что все участки поля конечности обладают способностью к ее формированию с наибольшей потенцией, свойственной переднему и дорсальному участкам. Поле почки развивающейся конечности амфибий обладает значительными регуляторными возможностями, и расщепление этого поля ведет к развитию

множественных конечностей, как это наблюдалось при массовом заражении амфибий паразитическими трематодами (Гилберт, 2010) (рис. 41).

Важная особенность морфогенетических полей зародыша состоит в их динамической модульной структуре. Такие модули развития, как морфогенетические поля и зачатки органов, обладают автономными свойствами и имеют иерархическую структуру. Эволюция регуляторных систем вовлекает модулярный контроль полей в развитии. Модули могут изменяться в зависимости от локализации, времени и взаимодействия с другими модулями (Raff, 1996). Морфогенетические поля играют важную роль в эволюционных преобразованиях, которые зависят от воспроизведения и изменения этих полей. Примером эволюционных изменений данного типа может служить возникновение таких новообразований на основе морфогенетических полей конечности у разных животных, как, например, челюсти насекомых, а также пятна на крыльях бабочек, формирование которых обусловлено полями диффундирующих морфогенов: генных продуктов Distal-less, Hedgehog, Engrailed, Spalt и Notch (Brakefield, 2009). Исследования механизмов воспроизведения и модификации морфогенетических полей могут стать источником новых представлений об особенностях эволюционных процессов.

Модулярность полей в развитии и эволюции определяется сложностью и многомерностью иерархического каскада регуляторных генных сетей и их высокой пластичностью. Генные регуляторные системы состоят из больших наборов регуляторных генов; не только различные факторы транскрипции регулируют многие гены, но и каждый ген вовлечен во множество взаимодействий. Регуляторные и сигнальные гены такой сети дифференциально экспрессируются на последовательных стадиях развития; модификация структуры хроматина, альтернативный сплайсинг, трансляционный контроль и регуляторные РНК влияют на последующие события (Davidson, 2006; Alonso, 2008).

Простая однозначная связь между генотипом и фенотипом обычно отсутствует: некоторые малые генетические изменения могут дать существенный фенотипический эффект, тогда как относительно крупные генетические изменения (например, делеции) не всегда продуцируют очевидные фенотипические изменения – картирование генотип-фенотип оказывается сложным (Salazar-Ciudad, 2008). Как правило, экспрессия одного гена или взаимодействия небольшой группы генных продуктов не объясняют морфологических различий.

Каузальное описание развития требует понимания всей сети генных взаимодействий, вовлекаемых в трансформацию специфического паттерна, их влияния на клеточное поведение (пролиферацию, адгезию, апоптоз, секрецию и рецепцию сигнальных молекул и т.д.) и взаимодействия генных сетей с эпигенетической информацией предыдущего паттерна и других частей эмбриона (Salazar-Ciudad, 2008). Это сеть взаимо-

действий не только генов и генных продуктов, но всех механизмов развития, включая процессы контролируемой самоорганизации. Эпигенетические механизмы, регулирующие активность генов и взаимодействие клеток и тканей, могут играть значительную роль в возникновении частей тела и форм организма, в фенотипической пластичности и норме реакции развивающихся систем (Müller, 2008).

Морфогенетические поля вовлекают не только экспрессию генома, но множество сигнальных связей и взаимодействий, оперирующих на клеточном и тканевом уровне. Такая сложность взаимовлияний генных регуляторных сетей и их продуктов, в сущности, сближает геноцентрический и морфоцентрический подходы. По словам Ю. Оленова, любой пример исследованного процесса убеждает в том, что «гены представляют собой не диктаторов, от которых зависит ход событий, а скорее чиновников, работающих соответственно установившимся традициям» (Оленов, 1967, с. 198).

Таким образом, одним из основных элементов регуляции развития плана строения служат морфогенетические поля, связывающие генотип с фенотипом и впервые проявляющиеся в яйце, определяя полярность, регионализацию, положение и судьбу клеток по мере развертывания процесса развития; изменения свойств поля определяют изменения фенотипа и ведут к эволюционным новшествам.

Морфогенетические поля и синергетика

При синергетическом, междисциплинарном подходе морфогенетическое поле клеток предложено рассматривать как область самосогласованного клеточного поведения (Белинцев, 1991), самоорганизации клеток (Beloussov, 1998, 2012, 2015). Вслед за Р. Томом топологические концепции были применены для интерпретации динамики топологических трансформаций в эволюции и онтогенезе многоклеточных животных (Исаева, Преснов, 1990; Isaeva et al., 2006, 2008, 2012, 2014; Presnov et al., 2010, 2014). На субклеточном, клеточном и надклеточном уровнях биологической организации гетерогенное распределение структурных компонентов, ионные потоки и генерируемые ими электрические поля, поля механических натяжений, направленного клеточного движения проявляются как скалярные, векторные поля, поля направлений, а также дискретные клеточные поля.

На основе анализа раннего дробления зиготы сделано заключение о топологической неизбежности возникновения неоднородности, сингулярности дискретного поля клеточных контактов с появлением кривизны поверхности; предполагается, что отрицательная кривизна клетки вегетативного полюса зародыша инициациирует гаструляцию как топологический переход от сферы к тору (Presnov et al., 2010, 2014; Isaeva et al., 2012).

Топологический подход дает также возможность анализа последовательности сферических перестроек, изменяющих топологический род поверхности клетки или тела многоклеточных животных. Топологические и фрактальные трансформации эпителиальной поверхности организма в эволюции и развитии увеличивают поверхность раздела и контакта организма со средой, способствуя его лучшей адаптации к окружению (Исаева, 2005, 2012, 2015б; Isaeva et al., 2012, 2014). Детальный анализ динамики топологических и фрактальных форм в фило- и онтогенезе дает дополнительные возможности для биологической классификации (Исаева, 2005; Isaeva, 2013; Presnov et al., 2014).

Таким образом, на основе классических математических концепций и теорем представлена топологическая динамика формообразования в развитии и эволюции Metazoa и показана топологическая неизбежность некоторых событий раннего развития (Исаева, 2005, 2012, 2015б; Isaeva et al., 2012, 2014; Presnov et al., 2014). Авторы постулируют зависимость биологического морфогенеза от топологических и физических свойств пространства: топологические закономерности существенны для биологических систем в качестве фактора, ограничивающего и направляющего морфогенез.

Эпигенетический ландшафт Уоддингтона

Выдающийся английский эмбриолог и генетик К. Уоддингтон (1905–1975) ввел термин «эпигенетика» для описания разнообразных явлений надгеномного уровня и метафорически изобразил развитие организма в виде эпигенетического ландшафта (Waddington 1957, 1968; Уоддингтон, 1970; см. также Gilbert, 1991; Озернюк, 1992; Slack, 2002; Исаева, 2005; Jamniczky et al., 2010). Гилберт оценил эту концепцию Уоддингтона как одно из средств интеграции генетики, эмбриологии и теории эволюции (Gilbert, 1991). Эпигенетический ландшафт Уоддингтона представлен на рис. 42.

Согласно этой идее, «фенотип можно представить в виде ветвящейся системы траекторий, распространяющихся в фазовом пространстве вдоль временной оси» (Уоддингтон, 1970, с. 19). Каждая траектория, или креод – морфогенетическое поле с координатой времени (Waddington, 1940). Таким образом, эпигенетический ландшафт Уоддингтона, подобно концепции позиционной информации Уолперта, неразрывно связан с представлением о морфогенетических полях.

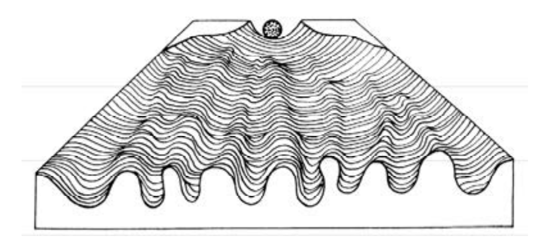


Рис. 42. Эпигенетический ландшафт Уоддингтона.

На создание К. Уоддингтоном эпигенетического ландшафта как модели развития повлияла теория динамических систем, истоки которой связаны с именем А. Пуанкаре; эпигенетический ландшафт – метафора динамической системы (см. Slack, 2002; Исаева, 2005). Концепция эпигенетического ландшафта К. Уоддингтона дала импульс к созданию знаменитым математиком Р. Томом теории катастроф или бифуркаций (Том, 1970, 2002). В 1970 году Том писал, что разработке его теории «способствовало чтение руководств по эмбриологии, в частности, книг Уоддингтона, представления которого о “креодах” и “эпигенетическом ландшафте”, как мне кажется, хорошо укладываются в абстрактную схему, содержащуюся в моей теории» (с. 145). Это уникальный случай влияния эмбриологических идей на разработку столь общей математической теории, как теория катастроф.

Р. Том придал математический смысл понятиям морфогенетического поля, эпигенетического ландшафта и креодов Уоддингтона, показав, что эти понятия, ранее выраженные неопределенным языком биологии, могут быть адекватно сформулированы в терминах векторных полей, аттракторов и бифуркаций (Том, 2002). Эволюция системы математически описывается векторным полем в фазовом пространстве – абстрактном пространстве динамических переменных системы, векторном поле в координатах переменных. Кривые последовательных состояний, создаваемые изменением положения точки в фазовом пространстве, называются фазовыми траекториями. Установившиеся режимы движения, иными словами, множество точек (в простейшем случае – одна точка) в фазовом пространстве системы, к которым стремятся ее траектории, получили название аттракторов – они как бы привлекают, притягивают траектории в фазовом пространстве. Траектории поля, стремящиеся к одному из аттракторов, образуют область, называемую бассейном (областью действия) этого аттрактора как центра притяжения (Том, 1970). Термин «бифуркация» (раздвоение, развилка) употребляется для обозначения внезапных скачкообразных изменений системы в ответ на плавное, непрерывное изменение параметров.

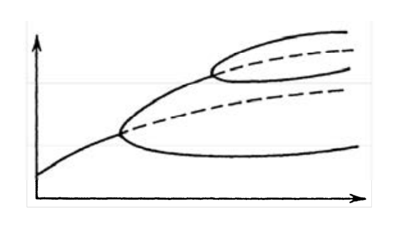


Рис. 43. Графическое представление бифуркаций (по Малинецкий, 1997; изменено).

Две последовательные бифуркации графически изображены на рис. 43: в каждой точке система имеет одно решение, одно значение – но лишь до точки бифуркации, когда появляется возможность выбора между двумя решениями.

Процесс развития может быть представлен в виде каскада последовательных бифуркаций. Потенциал развития и дифференцировки клетки метафорически связывается с высотой ее позиции на

эпигенетическом ландшафте. На вершине ландшафта Уоддингтона можно мысленно поместить зиготу, тотипотентную клетку, способную дать весь спектр дифференцированных клеток организма. По мере развития клетки зародыша «скатываются вниз» по склонам эпигенетического ландшафта, теряя тотипотентность (Кэри, 2012). В зависимости от потенциала развития как уровня эпигенетического ландшафта стволовые клетки могут быть плюрипотентными, мультипотентными, олигопотентными и, наконец, унипотентными. Клетки в разных зонах зародыша следуют различными путями (креодами), соответствующими разным состояниям терминальной дифференциации (Slack, 2002; Huang, 2011; Кэри, 2012).

В ходе эволюции креоды эпигенетического ландшафта усложняются по мере гетерохронных и гетеротопных преобразований с появлением различных популяций стволовых клеток, включая гаметогенные. Сохранение недифференцированного состояния популяций стволовых клеток у зародышей, личинок и взрослых животных (со сдвигом их дифференциации на более поздние стадии онтогенеза), т.е. проявление локальной гетерохронии, можно представить как временную задержку на относительно высоких уровнях эпигенетического ландшафта. Кэри (2012) полагает, что небольшая часть клеток (первичные половые клетки) возвращается вверх по уоддингтоновским «каналам». Более вероятно, гаметогенные плюрипотентные стволовые клетки поддерживают свое недифференцированное состояние без его потери (см. раздел о стволовых клетках), но в некоторых случаях не исключена и возможность подъема по эпигенетическому ландшафту с повышением клеточного потенциала развития.

Теория катастроф указывает некоторые общие черты явлений скачкообразного изменения режима системы в ответ на плавное изменение внешних условий: сочетание случайности и необходимости, детерминизма и непредсказуемости, возможность выбора из нескольких решений вблизи точки бифуркации, неожиданно сильного отклика на слабое воздействие и наоборот (см. Арнольд, 2004; Исаева, 2005). Бифуркации (катастрофы) представляют собой разрывы непрерывности в поведении систем.

Взгляды Уоддингтона близки современным представлениям о развитии динамических нелинейных систем. Применение концепций нелинейной динамики для понимания функционирования генных сетей дает возможность установить математическое соответствие между генными регуляторными сетями и эпигенетическим ландшафтом Уоддингтона, который можно представить как картину глобальной динамики этих сетей, объясняющую множественность и гетерогенность клеточных фенотипов, кодируемых одним генотипом.

Динамика метаболических процессов в онтогенезе и эпигенетические ландшафты

В соответствии с концепцией К. Уоддингтона эпигенетический ландшафт и траектории онтогенеза имеют генетическую природу. На эпигенетическом ландшафте есть участки, благоприятные и неблагоприятные для индивидуального развития. Вместе с тем, множество онтогенетических процессов не связано напрямую с генетической регуляцией: они имеют эпигенетическую природу. Одним из примеров эпигенетического ландшафта, на фоне которого протекает индивидуальное развитие организмов, могут служить, в частности, факторы окружающей среды. Развитие в оптимальных условиях среды рассматривается как онтогенетическая траектория с оптимальными параметрами метаболических процессов в организме (Озернюк,1992, 2000, 2006).

При анализе онтогенетических траекторий важны адекватные экспериментальные модели, описывающие свойства ландшафта и его влияние на развивающийся организм. Поскольку факторы среды, на фоне которых происходит развитие, в природе постоянно меняются, у животных в процессе эволюции сформировались адаптационные механизмы, которые позволяют видам существовать в условиях относительного оптимума. Эта проблема особенно остро стоит для пойкилотермных животных: температура тела у них меняется вслед за изменением температуры среды, влияя на скорость метаболических процессов. Установление оптимальных температур развития у этих животных, связанное сопределенными трудностями, имеет существенное значение для определения температурных границ метаболического гомеостаза.

В исследованиях, посвященных данной проблеме (Зотин, Озернюк, 1966; Озернюк, 1985, 1992, 2000, 2006), был предложен способ расчета скорости потребления кислорода (интегрального показателя энергетического метаболизма) развивающимися зародышами за время, равное продолжительности определенной стадии развития (например, продолжительности одного деления дробления, периода гаструляции, определенных органогенезов или всего периода эмбриогенеза). Для этого, помимо стандартного определения скорости потребления кислорода за единицу времени при разных температурах среды, необходимы данные о температурной зависимости скорости развития, выражаемые в τ_0 – относительной продолжительности какой-либо стадии эмбриогенеза. Т.А. Детлаф предложила использовать в качестве такого критерия продолжительность одного деления дробления яиц пойкилотермных животных (Детлаф, Детлаф, 1960; Игнатьева, 1979; Детлаф, 2001). Эти данные необходимы для расчета новой величины – суммарного потребления за время, равное продолжительности, зависящей от температуры той или иной стадии развития ($\Sigma O_2/\tau_0$).

В первых экспериментах, проведенных на вьюне *Misgurnus fossilis*, была выявлена зона температур с минимальной величиной $\Sigma O_2/\tau_0$ (Зотин, Озернюк, 1966; Озернюк, 1985; Алексеева, Озернюк, 1987) (рис. 44). Это означает, что в данном диапазоне температур на процесс развития расходуется минимальное количество энергии; при более низких и более высоких температурах, неблагоприятных для развития данного вида, величина $\Sigma O_2/\tau_0$ возрастает. Положение минимума $\Sigma O_2/\tau_0$ совпадает с максимумом выживаемости зародышей и зоной нерестовых температур для этого вида рыб. Таким образом, минимальная величина $\Sigma O_2/\tau_0$ отражает наиболее устойчивое, оптимальное состояние энергетического (окислительного) метаболизма зародышей. Температурная зона минимального $\Sigma O_2/\tau_0$ установлена также для зародышей дрозофилы *Drosophila melanogaster* (Алексеева и др., 1985), белуги *Huso huso* (Озернюк,1985), радужной форели *Oncorhynchus mykiss* (Алексеева, 1987), кеты *Oncorhynchus keta* (Зиничев, Зотин, 1988а, б) (рис. 44). Минимум $\Sigma O_2/\tau_0$ для этих видов совпадает с оптимальными температурами их развития. Таким образом, минимизацию энерготрат в зоне температурного оптимума можно рассматривать как общую закономерность, характерную для пойкилотермных животных.

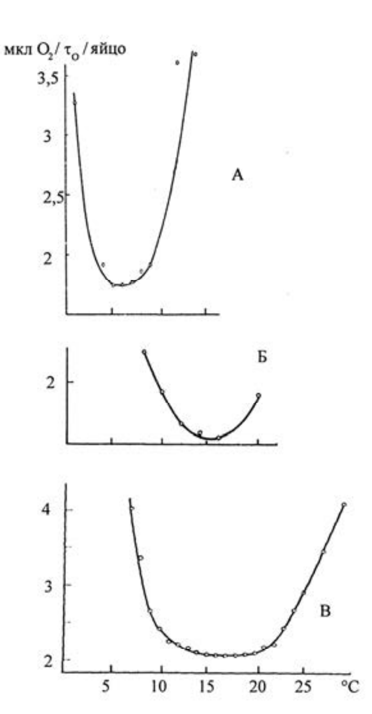


Рис. 44. Температурная зависимость $\Sigma O_2/\tau_0$ для зародышей радужной форели (А), белуги (Б) и вьюна (В) (Озернюк, 1985; Алексеева, 1987; Зиничев, Зотин, 1988а, б).

Существенные результаты были получены на зародышах рыб, развитие которых протекает при меняющихся температурных условиях среды. Оказалось, что минимум $\Sigma O_2/\tau_0$ смещается в процессе эмбрионального развития лососевых рыб в соответствии с изменением температуры воды в природных условиях (Озернюк, 1985; Алексеева, 1987; Зиничев, Зотин, 1988а, б). В частности, положение температурного минимума $\Sigma O_2/\tau_0$ в ходе зародышевого развития радужной форели сдвигается в область более высоких температур в соответствии с температурным дрейфом в природе (Алексеева, 1987), образуя желоб, дно которого соответствует температурному оптимуму развития (рис. 45). Напротив, у другого вида лососевых рыб, кеты, эмбриогенез начинается при относительно высоких температурах среды, а завер-

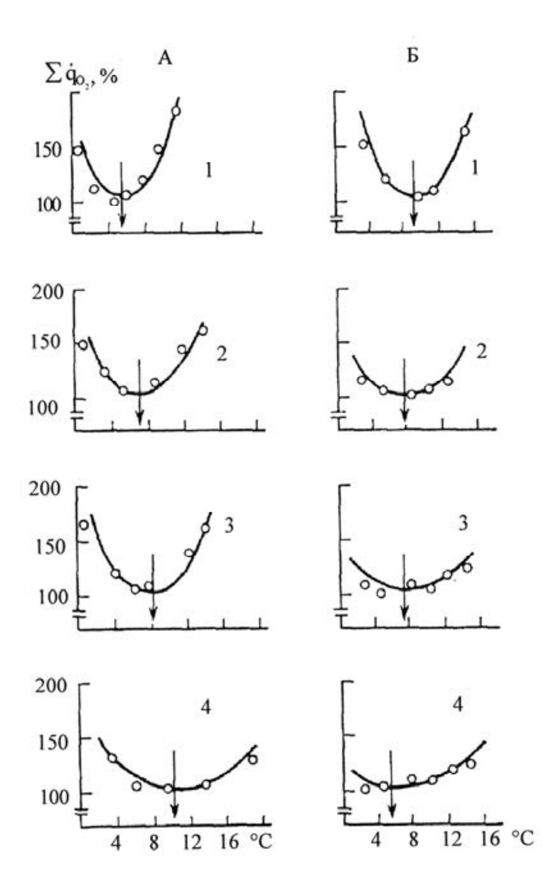


Рис. 45. $\Sigma O_2/\tau_0$ для развивающихся зародышей радужной форели (А) и кеты (Б) при разных температурах, соответствующих дрейфу температур в природе: 1 – стадия дробления, 2 – начало гаструляции, 3 – начало пульсации сердца, 4 – стадия перед вылуплением (Алексеева, 1987; Зиничев, Зотин, 1988а, б).

шается при более низких, и, в соответствии с этой особенностью, меняется положение температурного минимума $\Sigma O_2/\tau_0$ (Зиничев, Зотин,1988а, б) (рис. 45).

Суммарное потребление кислорода было определено также на постэмбриональных стадиях развития: во время роста рыб (Озернюк, Прокофьев, 1989) (рис. 46). В этом случае ΣO_2 рассчитывали на время прироста единицы массы тела (τ_w), зависящее оттемпературы среды, в которой рыбы растут. У мозамбикских тиляпий *Tilapia mossambica* $\Sigma O_2/\tau_w$ после 30-суточной инкубации при разных температурах (от 20 до 32^{0}С) минимум данного показателя метаболизма, определяемый при температурах предварительной инкубации (акклимации), был отмечен при 26^{0}С, что в общем виде соответствует температурам обитания этого теплолюбиво-

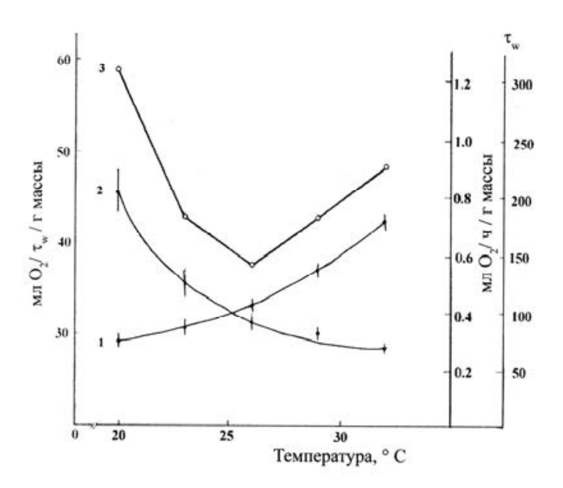


Рис. 46. $\Sigma O_2/\tau_w$ тиляпиями при разных температурах: 1 – мл O_2 /ч/г массы тела, 2 – время прироста 0.1 г массы тела (τ_w), 3 – $\Sigma O_2/\tau_w$ (Озернюк, Прокофьев, 1989).

го вида рыб в природе. Таким образом, предложенный подход для определения оптимальных температур развития дает возможность описать траекторию благоприятных температур для большей части онтогенеза рыб.

Изменение положения минимальных значений $\Sigma O_2/\tau_0$ на разных стадиях индивидуального развития рыб, соответствующее оптимальным температурам их развития в природе, следует интерпретировать как изменение направлений метаболических траекторий раннего онтогенеза. Это означает, что изменяющуюся температуру среды, в которой протекает индивидуальное развитие, можно рассматривать в контексте эпигенетического ландшафта, а изменение положения минимумов $\Sigma O_2/\tau_0$ – как один из индикаторов онтогенетических траекторий. Наиболее устойчивая траектория проходит по дну определяемого температурой среды желоба, где развитие протекает с минимальными энерготратами.

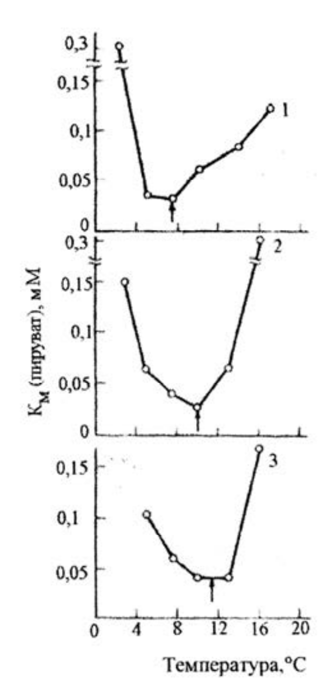


Рис. 47. Температурная зависимость $K_м$ для пирувата у ЛДГ на разных этапах развития радужной форели: 1 – начало гаструляции, 2 – стадия перед вылуплением, 3 –мышцы личинок после перехода на внешнее питание (Клячко, Озернюк, 1991).

Следует отметить, что положение температурного оптимума изменяется также для $К_м$ ферментов (на примере лактатдегидрогеназы – фермента углеводного обмена) на разных этапах онтогенеза рыб, развивающихся при меняющихся температурах среды (Клячко, Озернюк, 1991) (рис. 47). Для радужной форели минимальные величины $К_м$, соответствующие максимальным значениям фермент-субстратной афинности, смещаются в сторону более высоких температур (как и в случае $\Sigma O_2/\tau_0$) в соответствии с температурным дрейфом в природе. Таким образом, минимизацию энерготрат в онтогенезе можно рассматривать как метаболическую траекторию, соответствующую оптимальным, наиболее вероятным температурным условиям развития особей в природе.

Глава 8. СМЕНА СТАДИЙ И ПРОГРАММ РАЗВИТИЯ

Половое размножение консервативно во всем животном царстве ввиду монофилии Metazoa; стадии эмбриогенеза гомологизируемы и раннее развитие, как правило, относительно единообразно. Развитие, создающее взрослый организм, способный к половому размножению, обеспечивает тем самым переход к следующему поколению, поддерживая эволюционную преемственность и непрерывность поколений. При половом размножении онтогенез включает дробление зиготы: ряд митотических делений, в результате которых образуется бластула, состоящая из более или менее однородных клеток; затем в процессе гаструляции клетки разделяются на два или три комплекса – зародышевые листки, между которыми путем морфогенетических перемещений устанавливаются определенные пространственные отношения; далее следует органогенез и преобразование (плавное или путем метаморфоза) во взрослый организм (см. Иванова-Казас, 1995; Гилберт, 2010). Развитие как непрерывный процесс характеризуется последовательностью и взаимодействием отдельных стадий и процессов развития, относительная автономность, модулярность которых создает возможность формирования в ходе эволюции животных разнообразных типов развития и их вариантов. Принято разграничение прямого развития и непрямого, включающего стадию личинки. Сравнительное рассмотрение эволюционирующего «репертуара развития» (Müller, 2008) животных включает анализ строения яйцеклетки, типа дробления и гаструляции, личиночного развития и метаморфоза. Для геноцентрического подхода типичен сравнительный анализ регуляторных генных сетей, контролирующих развитие (Hinman et al., 2003; Davidson, 2006; Gao, Davidson, 2008; Peter, Davidson, 2011; Sebé-Pedrós, de Mendoza, 2015).

Проморфология яйцеклетки

В ходе гаметогенеза происходит переключение программы поддержания стволовых клеток половой линии (клеточные деления и предотвращение преждевременной дифференцировки) на программу мейоза и гаметогенеза. Диморфизм гамет животных очень резко выражен. На одноклеточной гаплоидной стадии жизненного цикла животных происходит весьма жесткий отбор гамет, поскольку у диплоидов рецессивные мутации маскируются, у гаплоидов все мутации «обнажены».

Яйцеклетка как одноклеточный канал связи между поколениями, помимо генома, несет «карту» и «часы» ранних стадий развития, и эта важ-

ная информация о будущем развитии организма, вынесена в кортикальный слой ооплазмы (Равен, 1964). Данные экспериментальной эмбриологии показали, что кортикальный слой яйцеклетки – носитель проморфологии, информации о пространственной организации будущего организма в виде системы морфогенетических факторов, определяющих полярность и симметрию яйца и контролирующих начальные этапы формирования структуры зародыша (см. Равен, 1964; Дондуа, 2005; Белоусов, 2005; Davidson, 2006; Гилберт, 2010).

Оплодотворенное яйцо дает начало десяткам и сотням различных клеточных типов, которые самоорганизуются с формированием плана строения взрослого организма (Ben-Tabou de-Leon, Davidson, 2007). Начальные различия экспрессии генов зародыша возникают благодаря неравному распределению регуляторных элементов ооплазмы в раннем дроблении (Davidson, 2006; Levine, Davidson, 2005; Гилберт, 2010). «Материнская анизотропия» ооплазмы как асимметричное распределение локализованных в ооплазме материнских мРНК и белковых факторов транскрипции, а также других клеточных компонентов, представляет собой систему осевых координат, «регуляторную архитектуру» яйца и зародыша, необходимую для ее трансляции в дифференциальную генную экспрессию, спецификацию и дифференцировку клеток (Davidson, 2006; Ben-Tabou de-Leon, Davidson, 2007). Система осевых координат ооцита и раннего зародыша наиболее детально изучена у дрозофилы (см. главу 7).

Создаваемая в ходе оогенеза структура яйца преобразуется в осевой паттерн взрослого организма. Поляризация яйцеклетки в оогенезе зависит от многих факторов: пространственного положения ооцита и его взаимодействия со вспомогательными клетками, распределения цитоплазматических структур, места и времени локализации и трансляции материнских мРНК (см. Равен, 1964; Дэвидсон, 1972; Nüsslein-Volhard, 1991; Иванова-Казас, 1995; Дондуа, 2005; Белоусов, 2005; Gilbert, 2010).

Гены «материнского эффекта», определяющие осевую полярность зародыша и взрослого организма, принято делить на несколько групп. К генам передней группы, помимо *bicoid*, относятся также *exuperantia* и *swallow*, определяющие локализацию РНК *bicoid*; гены задней группы включают *nanos*, *caudal* и целый ряд генов, контролирующих локализацию полярной («половой») плазмы и будущую дифференцировку гамет: *tudor*, *oskar*, *vasa*, *valois*, *pumilio*, *germ cell-less*. Дорсо-вентральную полярность дрозофилы контролирует ген *dorsal*; градиент концентрации белкового продукта этого гена, транскрипционного фактора, создается в результате взаимодействия фолликулярных клеток с ооцитом при участии продуктов других генов (см. Гилберт, 2010).

Контакт гамет, ооплазматическая сегрегация, осевая симметрия

Функции мужской и женской гамет многоклеточных животных существенно различаются. Крупная неподвижная яйцеклетка несет в ооплазме запас информационных макромолекул и питательных веществ, обеспечивающих прохождение раннего развития, тогда как основная функция способного к активному перемещению (у большинства Metazoa) сперматозоида – транспортировка мужского генома при минимуме цитоплазмы. Хотя события эмбриогенеза направляются материнской информацией, нельзя полностью игнорировать и отцовский цитоплазматический вклад при оплодотворении: центриоль спермия преобразуется в спермастер, который, по крайней мере, у некоторых исследованных животных служит триггером ооплазматической сегрегации и затем участвует в митотическом делении.

Проникновение спермия запускает каскад событий, модифицирующих организацию цитоплазмы яйцеклетки, прежде всего ее кортикального слоя (см. Vacquier, 1981; Kirschner, Gerhart, 2005; Гилберт, 2010). У большинства животных проникновение спермия ведет к завершению мейоза оплодотворяемого ооцита. Например, вслед за слиянием гамет мыши отделяется полярное тельце, в зоне его контакта с яйцеклеткой концентрируются актин и спектрин (Johnson, Maro, 1985; Reima, Lehtonen, 1985). В месте проникновения спермия в ооцит мыши наблюдается полимеризация актиновых филаментов (Johnson, Maro, 1985); у морского ежа вхождение спермия и локальная полимеризация актина приводит к образованию конуса оплодотворения на поверхности яйцеклетки (Cline, Schatten, 1986; Kyozuka, 1993). У лягушки место вхождения спермия подобным образом характеризуется полимеризацией актина с возникновением крупных микроворсинок, сохраняющихся в ходе дробления (Kirschner et al., 1980; Picheral, Charbonneau, 1982).

Вхождение спермия в ооплазму инициирует активацию метаболизма яйца. У многих исследованных видов наблюдается ооплазматическая сегрегация – процесс поляризованного сокращения и перемещения кортикальной актиновой сети яйцеклетки, ведущий к перераспределению компонентов ооплазмы (см. Mullins, 2009; Гилберт, 2010). Ооплазматическая сегрегация наиболее изучена у аннелиды *Tubifex* (Shimizu, 1988; 1989), асцидий (Sawada, Osanai, 1985; Sawada, 1988) и лягушки (Elinson, 1980; Kirschner et al., 1980; Kirschner, Gerhart, 2005). Сегрегация органоидов и молекулярных компонентов ооплазмы ведет у аннелид и других представителей Lophotrochozoa к обособлению полярной плазмы. Полярная (половая) плазма, состав которой лучше всего исследован у дрозофилы, помимо функции детерминации полярности будущего организма выполняет важную роль в спецификации первичных половых клеток.

У различных организмов показано перераспределение митохондрий и эндоплазматической сети; этим изменениям локализации органоидов способствует распространение волны ионов кальция, определяемое местом вхождения спермия (см. Stitzel, Seydoux, 2007; Гилберт, 2010). У некоторых видов асцидий и амфибий ооплазматическая сегрегация визуализируется благодаря перемещению пигментных гранул кортикальной ооплазмы. У асцидий после проникновения спермия желтый пигмент перемещается к вегетативному полюсу и затем формирует так называемый желтый серп ниже экватора (Sawada, 1988). У амфибий кортекс осемененного яйца реструктурируется со смещением пигмента в анимальную область и поворачивается относительно внутренней ооплазмы (Elinson, 1980; Kirschner, Gerhart, 2005). У этих представителей хордовых реорганизацию ооплазмы и асимметризацию зиготы в процессе ооплазматической сегрегации направляет вносимая спермием центриоль. Вхождение спермия и внесение центриоли в яйцеклетку лягушки *Xenopus* ведет к установлению дорсо-вентральной полярности, что связано с ориентацией плюс-концов микротрубочек по направлению к будущей дорсальной стороне зародыша и поворотом кортикального слоя ооплазмы (Weaver, Kimelman, 2004). Таким образом, проникновение спермия и его центриоли с последующей перестройкой ооплазмы определяет дорсо-вентральную полярность зиготы и будущего животного.

Между различными таксонами животных существуют значительные различия во времени формирования основных осей симметрии будущего организма, иногда даже у родственных организмов (см. главу 7). Дорсо-вентральная ось может быть определена до оплодотворения (как, например, у дрозофилы), в ходе оплодотворения (как это происходит у амфибий и асцидий), либо в ходе раннего дробления, как у морских ежей с планктотрофной личинкой (Raff, Raff, 2009; Minelli, 2003). Для многих представителей Bilateria данные о становлении дорсо-вентральной оси тела отсутствуют. До сих пор не вполне ясно, детерминирован ли трехмерный осевой план строения тела млекопитающих до оплодотворения или же устанавливается при оплодотворении (Schatten, Donovan, 2004).

У морских ежей с непрямым развитием только анимально-вегетативная ось детерминируется материнским эффектом, тогда как орально-аборальная (дорсо-вентральная) ось и затем лево-правая ось определяются в ходе раннего эмбриогенеза. Обилие желтка в яйцеклетках, обеспечивающее ускоренное лецитотрофное развитие, может вовлекать гетерохронии, включающие детерминацию в ходе оогенеза не только передне-заднего осевого паттерна, но также дорсо-вентрального, а иногда и латеральной асимметрии плана строения. Например, у морского ежа *Heliocidaris erythrogramma*, обладающего крупными яйцеклетками и прямым развитием, дорсо-вентральная ось устанавливается до оплодотворения, под материнским контролем (Raff, Raff, 2009).

Перераспределение и локализация в ооплазме факторов, определяющих судьбу регионов яйца и будущего зародыша, зависят от функционирования цитоскелета и системы межклеточных контактов и происходят не только в процессе оогенеза, но и после контакта гамет в ходе ооплазматической сегрегации, а также в раннем развитии. Фундаментальные преобразования на клеточном уровне в ходе оогенеза и раннего развития животных детерминируют осевые координаты будущего организма. Таким образом, ооплазма яйца и зиготы обладает долговременной необратимой эпигенетической памятью, подобной импринтингу.

Переключение материнской программы развития на зиготическую

Превращение оплодотворенного ооцита в тотипотентную зиготу, а впоследствии в зародыш – одна из наиболее сложных клеточных трансформаций в онтогенезе (Schier, 2007; Stitzel, Seydoux, 2007). Эта трансформация происходит практически при отсутствии транскрипции и зависит от информационных РНК, накопленных ооцитом в ходе оогенеза. Продукты материнских генов направляют события раннего развития, пока сформировавшийся зародыш транскрипционно неактивен. Ооцит или яйцеклетка до оплодотворения содержат все информационные РНК, необходимые для начала развития. Ооцит содержит огромный спектр РНК, соответствующий 20–45% всех генов мыши и 55% всех генов дрозофилы (см. Stitzel, Seydoux, 2007). Эти транскрипты направляют созревание ооцита и активацию яйца.

Преобразование ооплазмы вслед за контактом и слиянием гамет активирует белковый синтез на материнских информационных РНК, трансляция которых до этого была подавлена (см. Schier, 2007; Гилберт, 2010). Быстрое увеличение числа клеток после оплодотворения у большинства животных обеспечивается ускоренным прохождением синхронных митотических циклов, когда общее количество цитоплазмы остается постоянным при экспоненциальном возрастании числа ядер и количества ДНК. В этот период развитие обеспечивается материнскими мРНК и белками. Геном зародыша активируется в течение более поздних клеточных циклов. Переход от материнского к зиготическому контролю развития был впервые исследован на *Xenopus* и назван переходом средней бластулы (mid-blastula transition) – в соответствии с временнóй приуроченностью этого перехода у лягушки (Newport, Kirschner, 1982), или материнско-зиготическим переходом (maternal-zygotic transition). У *Xenopus* материнско-зиготический переход, который характеризуется удлинением клеточного цикла, включением фаз G1 и G2 в митотический цикл и активацией зиготической транскрипции, происходит после 12 быстрых синхронных делений, когда зародыш состоит примерно из

4000 клеток (Newport, Kirschner 1982; Vasudevan et al., 2006). У представителей других таксонов животных переключение материнской программы развития на зиготическую может происходить после меньшего числа делений дробления. У большинства животных спермий проникает в ооцит, не завершивший делений созревания, т.е. происходит переход от ооцита к зиготе (Stitzel, Seydoux, 2007).

Переход от ооцита к зиготе вовлекает множество изменений, включая перестройку внутриклеточной организации, белковый синтез, деградацию белков и РНК (Stitzel, Seydoux, 2007). Активация яйца, запускаемая у многих видов вхождением спермия, завершается трансформацией в зиготу с формированием пронуклеусов, их слиянием и первым митотическим делением. Созревание ооцита требует синтеза новых белков в определенной последовательности, при активации яйца транслируется дополнительный набор мРНК. Активация трансляции часто зависит от освобождения РНК из РНП-комплексов, блокирующих инициацию трансляции. Например, в яйце дрозофилы трансляционное ингибирование мРНК циклина В поддерживается связыванием с белком Pumilio, а трансляция этой РНК инициируется при активации яйца (Stitzel, Seydoux, 2007).

Первые свидетельства репрессии транскрипции зиготического генома были представлены в 1982 году, когда Ньюпорт и Киршнер сообщили, что преждевременное увеличение числа ядер или количества ДНК ведет к преждевременной зиготической транскрипции у зародышей и удлинению клеточного цикла в развитии *Xenopus* (Newport, Kirschner, 1982). Эти данные и последующие исследования на *Drosophila* и *Danio* привели к предположению, что ядерно-цитоплазматическое соотношение и разбавление транскрипционных репрессоров при экспоненциальном возрастании количества ДНК определяют время материнско-зиготического перехода (Schier, 2007). Репрессия зиготического генома в течение раннего развития контролируется множественными механизмами регуляции синтеза и деградации РНК. Накапливаются свидетельства контроля перехода ооцит-зигота регуляторами клеточного цикла (Stitzel, Seydoux, 2007). Репрессия транскрипции зиготического генома может быть опосредована состоянием хроматина; предполагается участие гистонов или других компонентов хроматина в поддержании сайленсинга генов зародыша до появления критического количества ДНК. Получены также свидетельства роли эпигенетических механизмов, в частности, метилирования ДНК, в репрессии эбрионального генома (см. Schier, 2007).

Таким образом, во время материнско-зиготического перехода инициируется эмбриональная транскрипция и деградируют многие материнские РНК (рис. 48).

Появление зиготических РНК и деградация материнских РНК регулируется многими механизмами. Преждевременная экспрессия одного



Рис. 48. Материнско-зиготический переход: динамика материнских и зиготических РНК в процессе раннего развития зародышей (по Schier, 2007).

из белковых компонентов транскрипционного контроля либо атипичная экспрессия транскрипционных активаторов могут индуцировать преждевременную активацию некоторых зиготических генов. Репликация ДНК в ходе быстрых циклов клеточного деления, лишенных фаз G1 и G2, также может препятствовать транскрипции генов зародыша, поскольку экспериментально индуцированное удлинение клеточного цикла вызывает их преждевременную транскрипцию (см. Schier, 2007). При активации генов зародыша многие материнские РНК деградируют. Деградация материнской РНК индуцируется связыванием белков и микроРНК с последовательностями нетранслируемой области 3′ конца РНК-мишени (Schier, 2007).

Показано, что у *Drosophila*, *Caenorhabditis elegans* и *Danio* белки, специфичные для половой плазмы, деградируют в соматических регионах зародыша (Stitzel, Seydoux, 2007). Наиболее исследован переход от материнской программы развития к зиготической у *Drosophila melanogaster*. Паттерн зародыша дрозофилы формируется как результат последовательной экспрессии каскада генов, устанавливающих план строения тела вдоль переднезадней и дорсо-вентральной осей.

Раннее развитие млекопитающих, как и других животных, делится на две отчетливые фазы: первая базируется на материнской программе за счет запасенных в оогенезе информационных макромолекул, вторая – на экспрессии зиготических генов (Leidfield-Rutledge, 1996). Во время созревания яйца мыши деградируют 15% транскриптов; дальнейшая деградация идет под зиготическим контролем (Stitzel, Seydoux, 2007). Для эмбрионов млекопитающих характерна очень ранняя активация зиготической транскрипции. У мыши переход от контроля материнскими генами к зиготическому контролю и деградация материнской РНК начинаются уже на стадии двух бластомеров, хотя синтез материнских белков происходит и на 8-клеточной стадии (Nothias et al., 1995; Leidfield-

Rutledge, 1996). У овцы и коровы переход к зиготической программе осуществляется на стадии восьми бластомеров (Leidfield-Rutledge, 1996). У человека эмбриональная транскрипция инициируется на стадии 4–8 бластомеров (Vasudevan et al., 2006).

Как известно, эксперименты по клонированию животных демонстрируют репрограммирование ядра клетки-донора, перенесенного в энуклеированную яйцеклетку. Слияние гамет и их пронуклеусов ведут к подобному репрограммированию возникающего ядра зиготы. Преобразование ооцита или яйцеклетки в тотипотентную зиготу вслед за контактом гамет происходит в отсутствие транскрипции и направляется материнскими информационными молекулами и структурами цитоскелета; изменения включают перестройку внутриклеточной организации и трансляцию материнских транскриптов. Затем осуществляется переход от материнского к зиготическому контролю развития с включением транскрипции генов зародыша и сопутствующим разрушением материнских транскриптов и белков.

Дробление

Пространственная организация дробления представляет собой устойчивую характеристику, имеющую таксономическое значение, генетически и эволюционно обусловленную и закрепленную. Характер раннего дробления определяется как материнской программой, создаваемой в оогенезе архитектоникой цитоплазмы яйца, количеством и распределением желтка, так и последовательными митотическими делениями зиготы и бластомеров, а также взаимодействиями бластомеров. Тип и особенности дробления влияют на характер последующего зародышевого развития, определяя тип эмбриогенеза.

Эмбриологи обычно различают детерминированный (мозаичный) и регулятивный типы развития; это разделение связано со сроками становления проморфологии зародышей, ее градиентным или мозаичным характером и возможностью регуляции при удалении части зародыша (Иванов, 1937; Иванова-Казас, 1995; Davidson, 2006; Nielsen, 2012; Гилберт, 2010). У животных с мозаичным, детерминированным типом развития (преформацией) спецификация клеток и зачатков происходит в период дробления, тогда как у животных с регулятивным развитием (эпигенезом) спецификация зачатков осуществляется позднее, в полях генных регуляторных сетей и клеточных взаимодействий. При относительности такого разграничения явление исходной ооплазматической локализации факторов, рано или относительно поздно определяющих судьбу бластомеров в ходе дробления, достаточно универсально.

Раннее развитие Metazoa весьма вариабельно и среди представителей разных таксонов, и в пределах одного типа животных (Nielsen, 2012).

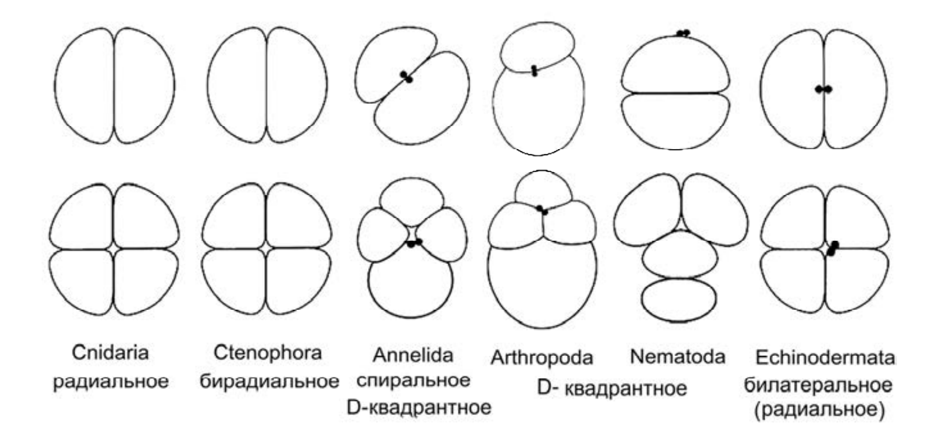


Рис. 49. Примеры типов дробления у книдарий и основных групп билатеральных животных. Ориентация дробящейся зиготы показана в соответствии с направлением осей тела животного. Полярные тельца выделены черным цветом. Arthropoda представлены примером ракообразного *Semibalanus*; нематоды – *Caenorhabditis*; дробление иглокожих иллюстрирует пространственное расположение бластомеров всех Deuterostomia (Nielsen, 2012, с изменениями).

Попытка классификации типов расположения бластомеров после первых двух делений при полном дроблении у книдарий и Eubilateria представлена Нильсеном (Nielsen, 2012) (рис. 49).

У многих первичноротых животных с полным дроблением борозда первого деления располагается косо по отношению к первичной оси яйцеклетки; в результате второго деления появляются четыре бластомера, один из которых, именуемый D, крупнее остальных и обычно дает начало энтомезодерме и половым клеткам (Nielsen, 2012). Согласно Нильсену, среди Ecdysozoa некоторые членистоногие с мелкими яйцеклетками и полным дроблением, а также большинство нематод характеризуются квадрантным дроблением. Этот паттерн дробления рассматривается Нильсеном как апоморфия Protostomia. Следует отметить, что приведенная им классификация типов дробления далеко не бесспорна и не разделяется в полной мере другими эмбриологами; в частности, спорна трактовка дробления членистоногих и нематод, названного D-квадрантным. Кроме того, Нильсен (Nielsen, 2012) рассматривает дробление иглокожих и всех вторичноротых как билатеральное (первое деление медианное, второе – трансверсальное, дающее два передних и два задних бластомера); однако большинство биологов развития считают радиальное дробление архетипом раннего развития Deuterostomia.

Эволюция яиц животных большинства таксонов направлена в сторону увеличения количества желтка – разумеется, за исключением плацен-

тарного развития и некоторых случаев паразитизма (см. Иванова-Казас, 1995; Гилберт, 2010). Большое количество желтка дает возможность зародышу пройти больший отрезок своего развития под защитой яйцевых оболочек, что дает бесспорные биологические преимущества. Во многих таксонах животных наблюдается переход от полного дробления через неравномерное к неполному с переключением на ускоренное лецитотрофное развитие. В частности, в каждом крупном таксоне членистоногих произошел переход от полного равномерного дробления к неполному поверхностному, и для членистоногих в общем характерен «артроподный» тип развития, включающий центролецитальность и поверхностное дробление (Иванова-Казас, 1995). Переход от неравномерного полного дробления к неполному выявлен у амфибий (Elinson et al., 2011), иглокожих и многих других групп.

Изменения количества желтка в яйце и связанные с этим изменения характера дробления – составная часть комплекса адаптаций при сдвигах стратегии размножения и развития, которые связаны с переключением программы репродуктивной стратегии (Kasyanov, 2001). Неполное дробление, унаследованное от предковых организмов, иногда вторично сменяется полным, что может быть обусловлено развитием зародыша либо внутри материнского организма (у млекопитающих), либо в организме личинки другого вида (у паразитоидных насекомых).

В зависимости от количества и характера распределения содержащегося в ооплазме желтка дробление может быть полным (голобластическим, с подразделением на изолецитальное и мезолецитальное) или неполным (меробластическим) с делениями ядер без разделения цитоплазмы, включающим телолецитальное и центролецитальное (Иванов, 1937; Иванова-Казас, 1995; Белоусов, 2005; Дондуа, 2005; Гилберт, 2010). Полная, исчерпывающая классификация типов дробления с учетом всех его характеристик и филогенетических связей затруднительна. Принятые классификации дробления нередко весьма формально объединяют разнородные множества и разные таксоны, не связанные общим происхождением, одновременно разделяя родственные группы. Например, билатеральное и дискоидальное дробление независимо, конвергентно возникло в различных таксономических группах животных. В то же время значительные различия характера дробления найдены даже в пределах близкородственных видов, например, среди нематод (Schierenberg, Schulze, 2008), морских ежей (Wray, Raff, 1989; Hinman et al., 2003).

Классификация дробления по Гилберту (2010) учитывает различия пространственной организации бластомеров в раннем дроблении, включая его модификации в зависимости от количества и характера распределения желтка в ооплазме, с выделением голобластического (радиального, спирального и билатерального), меробластического телолецитального (билатерального и дискоидального) и центролецитального дробления (рис. 50).

I. Голобластическое (полное) дробление

А. Изолецитальное

1. Радиальное (иглокожие)

2. Спиральное (аннелиды, моллюски)

3. Билатеральное (асцидии)

4. Изменяющееся (нематоды, млекопитающие)

Б. Мезолецитальное

Радиальное (амфибии)

II. Меробластическое (неполное) дробление

А. Телолецитальное

1. Билатеральное (головоногие)

2. Дискоидальное (рыбы, рептилии, птицы)

Б. Центролецитальное

Поверхностное (большинство насекомых)

Рис. 50. Классификация основных типов дробления (по Gilbert, 2000).

Сравнительно-эволюционный подход к анализу дробления разработан О.М. Ивановой-Казас (1995). К примитивным типам дробления отнесены табличная палинтомия и тетраэдрическое дробление. Табличная палинтомия, свойственная дроблению генеративных клеток *Volvox*, обнаружена лишь у одного вида губок, *Leucosolenia complicata*. При таком типе дробления деления зиготы идут в одной плоскости, по меридианам

яйца и затем бластомеров, с образованием однослойной таблички бластомеров, приобретающей форму чаши. При тетраэдрическом типе дробления первые четыре бластомера не лежат в одной плоскости, а образуют трехмерную группировку с расположением вершин бластомеров в форме октаэдра. У бескишечных турбеллярий, Acoela найдено дуэтное дробление с взаимным смещением двух пар бластомеров (Иванова-Казас, 1995; Hejnol, 2015; Minelli, 2015a), которое можно рассматривать как тетраэдрическое дробление.

Дроблению губок не свойствен какой-либо определенный паттерн; книдарии характеризуются разнообразным дроблением, но у большинства из них проявляется радиальное дробление (Nielsen, 2012; Technau et al., 2015).

Спиральное дробление можно признать синапоморфией выделяемого некоторыми исследователями таксона Spiralia (спорного монофилетического статуса), в который включают животных нескольких групп ветви Lophotrochozoa. А.В. Иванов (1983) объединил животных, имеющих в архетипе спиральное дробление и личинку трохофорного типа, в надтип Spiralia, или Trochozoa. Аннелиды и моллюски – основные типы, составляющие Spiralia, гомология паттерна дробления которых кажется бесспорной (Nielsen, 2008, 2012; Bleidorn et al., 2015; Wanninger, Wollesen, 2015). Филогенетическое значение спирального дробления подкрепляется низкой вероятностью независимого перехода множества таксонов к такому своеобразному паттерну дробления (Minelli, 2015a). Помимо спирального, детерминированного паттерна дробления, Spiralia характеризуются отделением линии трохобластов (клеток прототроха) и трохофорной личинкой (Peterson, Eernisse, 2001; Nielsen, 2008, 2012; Minelli, 2015a). У представителей Spiralia многократно прослежена генеалогия бластомеров в ходе дробления и формирование их производных. Эмбриогенез животных этой группы весьма консервативен; предполагается, что он был присущ их общему предку (Chan, Lambert, 2014). В ходе эволюции квартетного спирального дробления представителей Spiralia, исходно равномерного, в связи с увеличением количества желтка, неравномерностью его распределения и другими особенностями проморфологии яйца, возникло неравномерное гомоквадрантное и специализированное гетероквадрантное дробление с чертами билатеральности, свойственное представителям кольчатых червей и моллюсков (Иванова-Казас, 1995).

Меробластическое дробление детально исследовано у дрозофилы и других крылатых насекомых, Pterygota. Развитие при таком типе дробления начинается несколькими ядерными делениями без деления ооплазмы; после выхода ядер в периферическую ооплазму образуется синцитиальная бластодерма, становящаяся затем клеточной в результате целлюляризации, разделения на клеточные территории. У дрозофилы в период синцитиальной организации осуществляется региональная спецификация

путем вхождения в ядра факторов транскрипции, градиент концентрации которых определяет будущую судьбу клеток. Генные регуляторные сети эмбриона дрозофилы, определяющие дорсо-вентральный паттерн и сегментацию, начинают функционировать, когда эмбрион еще синцитиален, так что межклеточная сигнализация играет ограниченную роль в пространственных взаимодействиях на этих стадиях развития зародыша (Levine, Davidson, 2005). После целлюляризации у эмбриона дрозофилы происходит переключение типа межклеточной коммуникации.

В эмбриональном развитии с полным дроблением отсутствует сквозная цитоплазматическая диффузия транскрипционных факторов, и действуют сигнальные механизмы межклеточных взаимодействий.

Дробление млекопитающих идентифицировано как поворотное (rotational), с очень ранней потерей синхронности деления двух первых бластомеров и различием плоскостей их деления (Gulyas, 1975; Gilbert, 2000). В соответствии с геометрическим расположением первых четырех бластомеров их группировку, характерную для плацентарных млекопитающих, можно назвать тетраэдрической (Иванова-Казас, 1995). Особенности эмбриогенеза млекопитающих включают и очень ранний переход от материнского контроля развития к зиготическому (см. Vasudevan et al., 2006). Раннему развитию млекопитающих свойственны высокие регулятивные возможности и сохранение широких потенций развития до стадии 8 бластомеров. Регулятивность развития и эволюционная пластичность дробления проявляется и у других представителей хордовых (за исключением оболочников с их детерминированным, мозаичным дроблением), а также у большинства вторичноротых.

Эмбриогенез у нематод более вариабилен, чем строение взрослого организма; спецификация осей, паттерн дробления, расположение бластомеров, характер сегрегации линии половых клеток, гаструляции могут рассматриваться как филогенетические маркеры типа нематод (Schierenberg, Schulze, 2008). На стадии четырех бластомеров у разных представителей нематод встречается близкое к тетраэдрическому (Т-образное) или линейное расположение бластомеров; общей чертой раннего развития оказывается только билатеральность дробления, а также его детерминированный характер, менее выраженный у примитивных свободноживущих нематод (Иванова-Казас, 1995).

Тот или иной тип дробления определяется главным образом глобальной цитоархитектоникой яйца и материнской программой за счет информационных молекул, запасенных в оогенезе. Цитоархитектоника ооплазмы определяет локализацию и активность множества мРНК, факторов транскрипции, компонентов сигнальных систем и других морфогенетически активных молекул и макромолекулярных комплексов и включает опорно-двигательную систему цитоскелета, от которой зависит паттерн делений дробления.

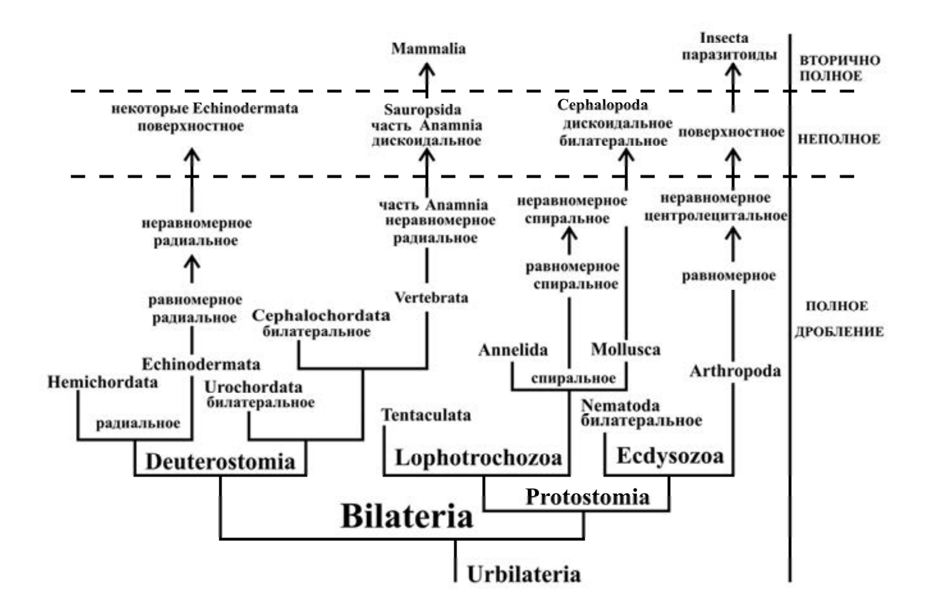


Рис. 51. Схема эволюционных преобразований дробления билатеральных животных.

Сведения о генах, детерминирующих паттерн дробления, практически отсутствуют. Лишь среди нематод, у представителя рода *Acrobeloides* найдена зависимость процесса дробления от активности зиготических генов. У этой нематоды выявлен также регулятивный потенциал, связанный с мультипотентностью ранних бластомеров; эти особенности представляют пример ранней эмбриональной пластичности (Schierenberg, Schulze, 2008).

Упрощенная схема филогенетических преобразований дробления билатеральных животных представлена на рис. 51.

Из этой схемы следует, что большинству типов животных свойственно голобластическое (полное) дробление радиального, спирального или билатерального типа. В результате возрастания количества желтка в некоторых типах животных (у всех головоногих моллюсков, некоторых иглокожих, многих представителей членистоногих и хордовых) возникает меробластическое дробление. Лишь млекопитающие и немногие насекомые вторично приобретают полное дробление.

В ходе дробления восстанавливается многоклеточность организма, возникает клеточный материал, необходимый для дальнейшего морфогенеза, молекулярная информация ооплазмы распределяется между разными бластомерами, определяя их дальнейшую судьбу, начинается переключение материнской программы развития на зиготическую с транскрипцией генома зародыша и межклеточными взаимодействиями бластомеров.

Бластуляция

Разделение индивидуального развития на стадии весьма условно; в частности, бластулой обычно называют стадию между окончанием дробления и началом гаструляции. Типичная бластула обладает внутренней полостью, бластоцелем, но такая полость наблюдается не у всех животных. Например, у млекопитающих раннее дробление ведет к возникновению морулы без появления бластоцеля. Определить конец периода дробления сложно, если он не связан с переходом от синхронных делений дробления к асинхронным, перестройкой клеточного цикла и эпителизацией бластулы (Иванова-Казас, 1995). Например, у млекопитающих уже первые деления дробления асинхронны, характеризуются полным клеточным циклом, а эпителизация наружных клеток морулы связана с ранним обособлением клеточного материала трофобласта. Организация бластулы животных весьма разнообразна в зависимости от строения яйца и типа дробления и, в свою очередь, влияет на характер гаструляции (Иванова-Казас, 1995) (рис. 52).

Последовательное прохождение циклов митотических делений дробления приводит к уменьшению объема цитоплазмы и восстановлению обычного для соматических клеток ядерно-цитоплазматического отношения. В конце дробления у большинства изученных животных происходит изменение структуры клеточного цикла с появлением пресинтетической (G1) и постсинтетической (G2) фаз, типичных для соматических клеток (Дондуа, 2005). Процесс дробления завершается образованием бластулы, морфология которой различна у разных животных и в оп-

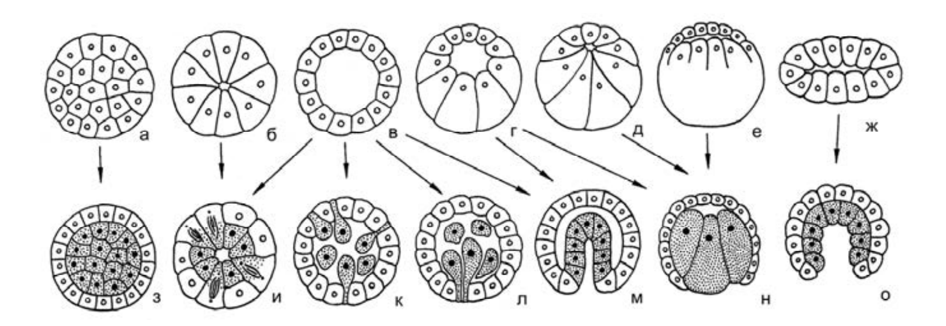


Рис. 52. Типы бластул (верхний ряд) и гаструляции при полном дроблении (исключение – е): а – равномерная морула; б – стерробластула; в – равномерная целобластула; г – неравномерная целобластула; д – неравномерная стерробластула; е – дискобластула; ж – плакула; з – морульная деламинация; и – клеточная деламинация; к – мультиполярная иммиграция; л – униполярная иммиграция; м – инвагинация; н – эпиболия; о – изгибание плакулы. Энтодерма выделена точечным затенением (Иванова-Казас, 1995).

ределенной мере коррелирует с количеством желтка в яйцеклетке и паттерном дробления. Возможно, архаичным, унаследованным от предков типом бластулы является целобластула с полостью, однако в пределах почти каждого таксона найдено множество вариантов бластулы (Иванова-Казас, 1995; Schierenberg, Schulze, 2008). Целобластула характеризуется наличием бластоцеля; у морулы, представляющей собой сплошное плотное скопление клеток, и у стерробластулы, образованной крупными коническими бластомерами, бластоцель отсутствует; плакула – уплощенная целобластула. В результате неполного дробления при дискоидальном дроблении возникает дискобластула, при поверхностном – перибластула. При увеличении количества желтка происходил эволюционный переход от равномерной целобластулы или стерробластулы к неравно-

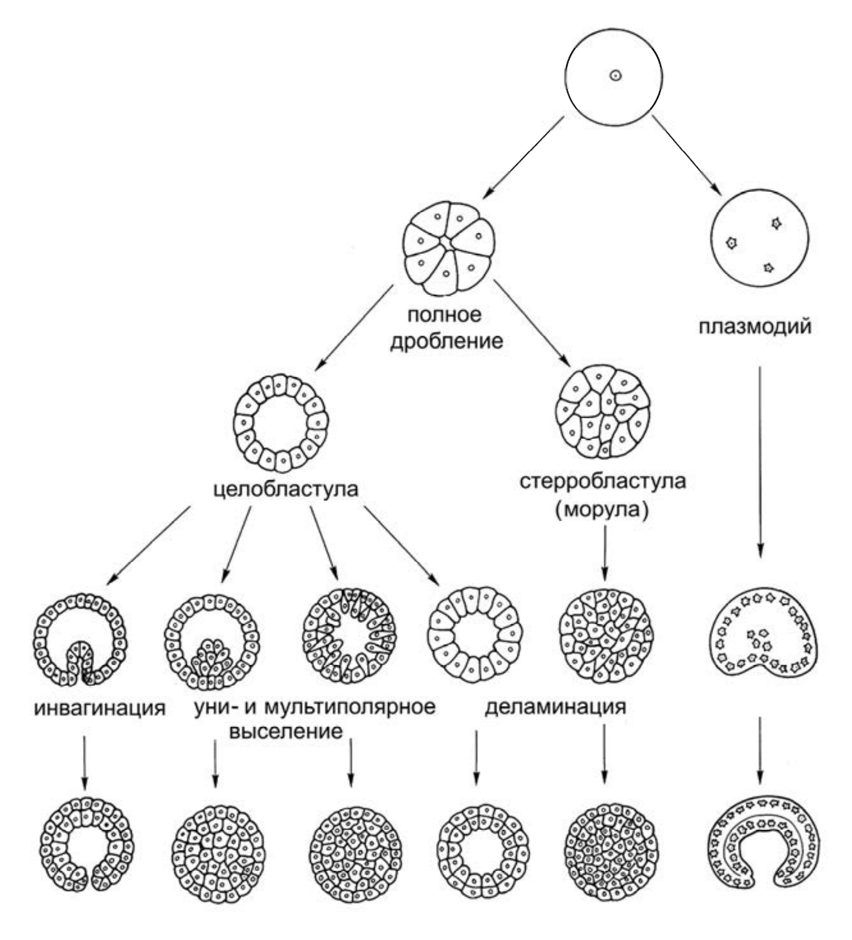


Рис. 53. Типы дробления, бластулы и гаструляции у Cnidaria (Nielsen, 2012, с изменениями).

мерным вариантам их организации и далее – к неполному дроблению (Иванова-Казас, 1995) (рис. 52). Таким образом, формирование и строение бластулы разных животных весьма разнообразны в зависимости от организации яйца и типа дробления, что, в свою очередь, влияет на характер гаструляции.

Разнообразие типов бластулы и корреляция морфофункциональных характеристик организации яйца, типов дробления, бластуляции и гаструляции проявляется уже у книдарий (Nielsen, 2012) (рис. 53).

У книдарий наблюдается значительное разнообразие типов гаструляции: путем иммиграции (мультиполярной, униполярной и биполярной), деламинации, инвагинации, а также сочетание иммиграции и деламинации. Нильсен именует неполное (меробластическое) дробление плазмодиальным, ведущим к образованию плазмодия, с более поздним разделением на клетки, а плотный агрегат бластомеров он называет стерробластулой (Nielsen, 2012). Большинство эмбриологов именуют плотный клеточный агрегат морулой, а стерробластулу рассматривают как бластулу с очень крупными, содержащими много желтка бластомерами и небольшим бластоцелем.

На стадии средней бластулы у иглокожих и позвоночных появляются специализированные контактные зоны, связывающие клетки бластулы в единый пласт; происходит переход на иную подпрограмму раннего развития с включением механизма межклеточных взаимодействий, определяющих целостность и форму зародыша (Newport, Kirschner, 1982; Trinkaus, 1992; Исаева, 1994; Kirschner, Gerhart, 2005). Рыхлая упаковка бластомеров, имеющих форму, близкую к сферической, сменяется плотной упаковкой клеток, форма которых становится полиэдрической, а на поверхности зародыша – полигональной за счет увеличения протяженности контактных зон. В период, соответствующий стадии эпителизации бластулы, диссоциированные бластомеры морской звезды или морского ежа, лежащие на дне чашек в виде рыхлого слоя клеток, плотно примыкают друг к другу с образованием эпителиального пласта. Затем края однослойной клеточной пластинки, изгибаясь, приподнимаются над субстратом, в конце концов, смыкаясь и завершая бластулообразование столь необычным способом, названным бластуляцией (Dan-Sohkawa, Fujisawa, 1980; Kadokawa et al., 1986). Подобным образом диссоциированные бластомеры морского ежа *Strongylocentrotus nudus* в период, соответствующий стадии эпителизации бластулы, смыкаются в плотную однослойную пластинку, края которой начинают изгибаться кверху; несколько позже реконструирующийся таким образом зародыш с еще не замкнутыми краями пласта становится подвижным (Исаева, 1994).

Таким образом, на дробящихся зародышах иглокожих экспериментально показано, что формирование бластулы – не просто итог дробления, но активный процесс морфогенеза, который правомерно именовать бла-

стуляцией. Появление специализированных контактных зон и переключение на межклеточные взаимодействия происходит у представителей различных классов иглокожих, когда зародыш после серии синхронных делений дробления состоит из 128–256 клеток. Подобное переключение в развитии амфибий (исследованное главным образом на лягушке *Xenopus*) тоже осуществляется на стадии средней бластулы (состоящей примерно из 4000 клеток) как координированный переход к асинхронным митотическим циклам с изменением их структуры и активацией транскрипции генома зародыша (Newport, Kirschner, 1982). Процесс материнско-зиготического перехода к новой подпрограмме развития включает и эпителизацию клеток бластулы. Молекулярные события трансляции материнских мРНК, перемещения транскрипционных факторов в ядра клеток синцитиальной бластулы и включения их дифференциальной транскрипции при поверхностном меробластическом дроблении и последующей целлюляризации и эпителизации хорошо исследованы на дрозофиле.

При всех различиях переключения программы после прохождения раннего дробления, общность событий развития большинства животных разных таксономических групп заключается в координированности изменений морфофункциональной организации клеток зародыша и превращении бластомеров эмбриона в эпителиальные клетки интегрированного пласта – первого зародышевого листка. Такого рода координированный, «фазовый» переход в развитии различных животных уже давно был охарактеризован П.П. Ивановым (1937) как переход от цитотипического периода к органотипическому. Критическим параметром такого перехода на стадии средней бластулы может быть ядерно-цитоплазматическое отношение; в пользу такого предположения свидетельствует сдвиг точки перехода в гаплоидных яйцах на один клеточный цикл (см. Дондуа, 2005).

У млекопитающих эпителизация наружного слоя клеток сопряжена с детерминацией клеточной линии будущей трофэктодермы и происходит после асимметричного деления поляризованных бластомеров 8-клеточного зародыша, на стадии 16-клеточной морулы (Johnson, Maro, 1985; Geneviére et al., 2009).

Регулятивный тип развития с относительно поздним определением судьбы зачатков характерен для многих книдарий и хордовых; у позвоночных животных (но не млекопитающих) активность генома зародыша и детерминация зачатков начинаются после завершения дробления, на стадии, когда зародыш образован тысячами клеток. Ранняя спецификация клеток сопряжена со снижением регулятивных потенций зародыша, тогда как регулятивные способности в большей мере проявляются в развитии тех животных, судьба клеток которых детерминируется на относительно поздних стадиях эмбриогенеза (Дондуа, 2005; Davidson, 2006).

Таким образом, как правило, на стадии бластулы активируется экспрессия зиготического генома, устанавливаются специализированные межклеточные взаимодействия и образуется первый эпителиальный слой клеток.

Гаструляция

Эта стадия развития – важное онтогенетическое и эволюционное событие, определяющее основной план строения зародыша и связанное с морфогенетическими перемещениями отдельных клеток и первичного эпителиального слоя. На характер гаструляции влияет количество и распределение желтка; важнейшее значение при гаструляции имеют морфогенетические движения, контролируемые клеточными и молекулярно-генетическими механизмами, которые включаются на стадии поздней бластулы (Иванова-Казас, 1995; Белоусов, 2005; Дондуа, 2005; Hejnol, Martindale, 2008; Гилберт, 2010). К началу гаструляции клетки зародыша приобретают способность к двигательной активности. Процесс гаструляции, завершающийся образованием трех зародышевых листков у билатеральных животных, характеризуется, как и предшествующие этапы развития, значительным разнообразием у животных разных таксономических групп и осуществляется при помощи различных клеточных механизмов и морфогенетических процессов: иммиграции (ингрессии), деламинации (расслоения), инвагинации (впячивания), эпиболии (обрастания). Формирование зародышевых листков нередко включает сочетание нескольких типов морфогенетических процессов. Иванова-Казас (1995) рассматривает гаструляцию путем иммиграции клеток как эволюционно первичную, а переход от иммиграции клеток при гаструляции к инвагинации – как рационализацию развития. Возникновение эпителизованного клеточного слоя и эпителиального морфогенеза можно считать ароморфным эволюционным приобретением.

Погружение клеток или инвагинация локализуется у билатеральных животных в области бластопора. Предложенная более ста лет тому назад идея К. Гроббена, разделившего всех Bilateria на две группы – Protostomia и Deuterostomia в соответствии с участием первичного рта (бластопора) в развитии окончательного ротового отверстия, получила широкое признание и распространение (см. Hejnol, Martindale, 2008; Иванова-Казас, 2015б). Было принято, что у первичноротых бластопор становится ротовым отверстием, а у вторичноротых возникает новый рот, не связанный с бластопором, тогда как на месте бластопора часто образуется анус.

Области ротового и анального отверстий у зародышей отличаются молекулярными маркерами. Было показано, что в области ротового отверстия у исследованных представителей Bilateria экспрессируются гены *brachyury* (*bra*), *foxA* и *goosecoid* (*gsc*), тогда как в области зачатка зад-

ней кишки и анального отверстия найдена экспрессия гена *caudal* (*cdx*) (Martin-Duran et al., 2012). Морфологически простые, радиально симметричные книдарии обладают генами (*twist*, *chordin*, *snail*, *brachyury*, *forkhead*), вовлекаемыми в гаструляцию и становление дорсо-вентральной оси у более высоко организованных животных (Baguña et al., 2008; Technau, 2010).

Выяснилось, что отношения между бластопором, ртом и анусом у различных животных более разнообразны, чем предполагалось ранее (Иванова-Казас, 1995, 2015б; Hejnol, Martindale, 2008). И рот, и анус могут формироваться в разном положении относительно бластопора. При амфистомии вытянутый, удлиненный бластопор затем смыкается латерально, давая начало и рту, и анусу. При протостомии бластопор смещается вперед, антеро-вентрально, давая начало ротовому отверстию; анальное отверстие возникает позже. При дейтеростомии бластопор остается в постериорном положении, либо затем закрываясь, либо давая начало анусу. Таким образом, возможны различные эволюционные сценарии пространственно-временных отношений между бластопором, ртом и анусом (рис. 54).

Вторичное возникновение ротового отверстия присуще не только Deuterostomia, но также Priapulida, Nematomorpha, некоторым Nemertea, Crustacea и другим группам, поэтому его филогенетическое значение невелико; по всей вероятности, дейтеростомия – всего лишь наиболее рациональный способ формирования сквозного кишечника в онтогене-

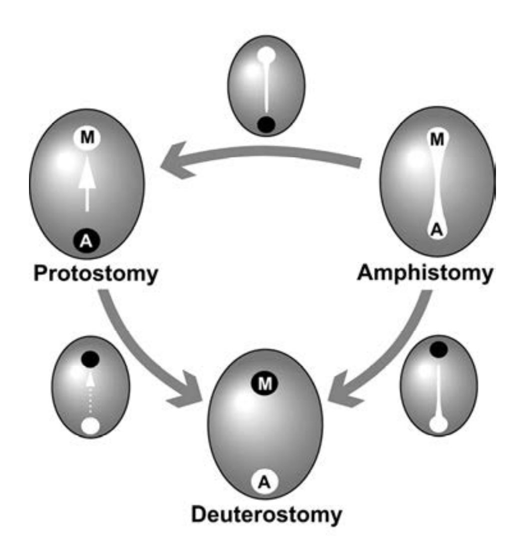


Рис. 54. Эволюционные сценарии отношений между протостомией, дейтеростомией и амфистомией. M – рот, A – анус; бластопор показан светлым, место вторичного появления рта или ануса – темным (Hejnol, Martindale, 2008).

зе (Иванова-Казас, 2015б). О.М. Иванова-Казас полагает, что исходным способом гаструляции была мультиполярная иммиграция, при которой бластопор не возникает; такой тип гаструляции представлен у многих книдарий, из чего следует, что в процессе эволюции рот появился раньше бластопора. На следующей стадии эволюции онтогенеза иммиграция стала униполярной. Бластопор как отверстие появился в эволюции вместе с инвагинационной гаструляцией как ее результат (Иванова-Казас, 2015б).

Основное различие между крупными ветвями билатеральных животных состоит не в происхождении ротового отверстия, а в способе развития целома. Иванова-Казас (2015б) предложила разделить Bilateria на три крупные группы: Acoelomata, Trochozoa и Enterocoelia, не полностью совпадающие с общепринятыми ветвями билатеральных животных: Ecdysozoa, Lophotrochozoa и Deuterostomia.

Так или иначе, для Trochozoa (Lophotrochozoa) характерно спиральное дробление, телобластический способ образования целомической мезодермы (из крупных эмбриональных клеток, телобластов, отделяющих будущие клетки мезодермы) и шизоцельное формирование целомов путем образования внутренних полостей в плотных скоплениях мезодермальных клеток с последующей эпителизацией (рис. 55), личинка трохофорного типа и вентральное положение нервной цепочки.

У представителей Ecdysozoa и Lophotrochozoa мезодерма возникает из немногочисленных бластомеров (иногда одного-двух), погружающихся внутрь зародыша путем ингрессии или путем инвагинации в составе архентерона, но затем отделяющихся от него в виде немногих клеток-предшественниц мезодермального материала. У нематод наблюдается разнообразие типов гаструляции – от инвагинации энто- и мезодермальных предшественников в бластоцель на стадиях 24–64 клеток (плезиоморфное состояние) до миграции (у *Plectus sp.*) единственной клетки-предшественницы энтомезодермы уже на 8-клеточной стадии, что мож-

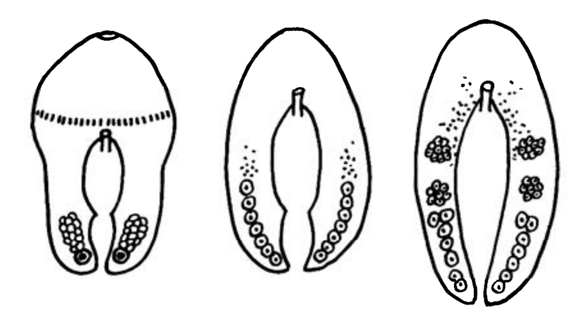


Рис. 55. Телобластический способ образования целомической мезодермы на примере полихет (по Ивановой-Казас, 1995, с изменениями).

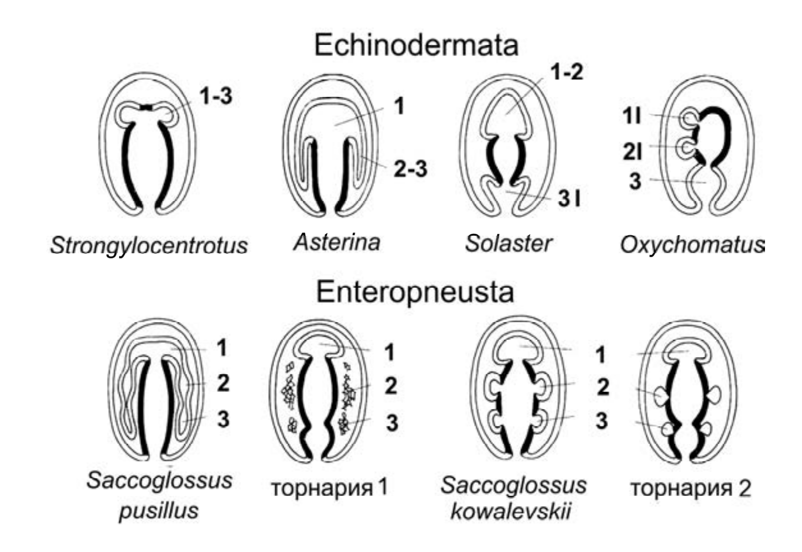


Рис. 56. Развитие целомических полостей у представителей иглокожих и кишечнодышащих. 1 – протоцель, 2 – мезоцель, 3 – метацель; энтодерма показана черным цветом; торнария 1 и 2 – личинки кишечнодышащих (Nielsen, 2012, с изменениями).

но интерпретировать как гетерохронию (Schierenberg, Schulze, 2008). Членистоногие, представители Ecdysozoa, демонстрируют разнообразие типов гаструляции, включающих деламинацию, иммиграцию, инвагинацию и эпиболию (Иванова-Казас, 1995). В частности, у дрозофилы происходит инвагинация медиальной части зародышевой полоски с исходным формированием мезодермальной трубки на вентральной стороне зародыша. Среди представителей Lophotrochozoa у *Alitta* (*Nereis*) *virens* и других полихет уже в процессе гаструляции начинается экспрессия *Hox*-генов (Корчагина и др., 2010; Kulakova et al., 2007; Bakalenko et al., 2013).

Представителям Deuterostomia (Enterocoelia, согласно Ивановой-Казас, 2015б) свойственно энтероцельное образование целома (рис. 56).

Таким образом, у иглокожих и кишечнодышащих (Enteropneusta, Hemichordata) как представителей Deuterostomia проявляется энтероцельное формирование целомической системы путем отделения от энтодермы одной, двух или трех эпителиальных целомических полостей. Иглокожие и кишечнодышащие, объединяемые в группу Ambulacraria, характеризуются архимерией (тримерией), т.е. делением тела на три области: просому, мезосому и метасому с тремя отчетливо выявляемыми целомическими компартментами: протоцелем, мезоцелем и метацелем соответственно (Nielsen, 2012). Однако у вторичноротых животных в исключительных случаях возможно и шизоцельное образование мезодермаль-

ных полостей в клеточных скоплениях, как, например, у некоторых торнарий, личинок кишечнодышащих, видовая принадлежность которых остается неустановленной (Иванова-Казас, 1995; Nielsen, 2012). Итак, представителям вторичноротых животных исходно свойственно радиальное дробление, энтероцельное образование мезодермы, личинка типа диплеврулы, дорсальная локализация нервного ствола у хордовых (Иванова-Казас, 1995).

Гаструляция иглокожих – сочетание иммиграции и инвагинации – начинается с выселения клеток первичной мезенхимы на вегетативном полюсе, затем здесь же происходит инвагинация эпителия. Погружение клеток первичной мезенхимы у морского ежа как первая фаза гаструляции наблюдается на стадии так называемой мезенхимной бластулы. После погружения клеток первичной мезенхимы активируется батарея генов скелетогенной дифференцировки, в клетках пигментной линии включается экспрессия набора генов, кодирующих синтез пигмента. Устанавливается спецификация энтодермальной и двух мезодермальных клеточных линий: скелетогенной линии первичных мезенхимных клеток и линии пигментных клеток вторичной мезенхимы (Ben-Tabou, Davidson, 2007). Клетки вторичной мезенхимы, выселяющиеся на вершине (дне) архентерона, участвуют в его сближении с будущей оральной областью эктодермы; после формирования ротового отверстия бластопор становится анусом личинки. Описана генная регуляторная сеть, функционирующая в развитии морского ежа от инициации генной экспрессии в ответ на начальную материнскую анизотропию до активации генов дифференцировки. Регуляторная сеть генов при спецификации энтодермы включает гены *blimp1, otxв, gatae, foxa, bra* (Oliveri, Davidson, 2004).

Спецификация энтомезодермы у иглокожих определяется консервативными модулями генных сетей. Ген *tbrain* (*tbr*) у зародышей морского ежа экспрессируется исключительно в скелетогенных клетках вскоре после отделения этой клеточной линии, тогда как экспрессия ортолога данного гена у зародышей морской звезды, голотурии и полухордовых наблюдается во всей проспективной мезодерме и энтодерме (Raff, Wray, 1989; Hinman et al., 2003). В процессе энтероцельного образования мезодермы от архентерона отделяется один или пара целомических мешков. Спецификация энтодермы у морских ежей и морских звезд определяется консервативными модулями генных сетей с регуляторными взаимодействиями между ортологичными генами (Davidson, 2006).

При общем сходстве детерминации энтомезодермы найдены и различия, включающие гетерохронию и гетеротопию генной экспрессии в связи с ранним морфогенезом личиночного скелета морских ежей (Hinman et al., 2003). Ген *tbrain* (*tbr*) у зародышей морского ежа экспрессируется исключительно в скелетогенных клетках вскоре после отделения этой клеточной линии, тогда как экспрессия ортолога данного гена у зароды-

шей морской звезды найдена во всей вегетативной пластинке, т.е. всей проспективной мезодерме и энтодерме (Wray, Raff, 1989; Hinman et al., 2003). Ортологи гена *tbr* у голотурии и полухордовых экспрессируются в области вегетативного полюса, дающего энтомезодерму. Подобная спецификация энтомезодермы с экспрессией гена *tbr* и у эмбрионов морской звезды, вероятно, представляет собой плезиоморфное, унаследованное от предков состояние; появление линии скелетогенных клеток у эмбрионов морского ежа – относительно недавнее эволюционное нововведение (Raff, Wray, 1989; Wray, Raff, 1989; Hinman et al., 2003).

В ходе эволюции вторичноротых (Deuterostomia) и щупальцевых (среди Lophotrochozoa) в результате радиального дробления возникает многоклеточная бластула с эпителизованной стенкой. Организация эмбриональных клеток в эпителиальные пласты способствовала возникновению эпителиальных морфогенезов: инвагинационной гаструляции, энтероцельного образования мезодермы, развития нервной системы из нейрального эпителия у хордовых. У многих мшанок в связи с лецитотрофией личинки, лишенной кишечника, энтодерма как обособленный листок часто не образуется (Иванова-Казас, 1995), т.е. в развитии происходит полное выпадение этого зародышевого листка и его производных. Подобным образом лецитотрофная личинка корнеголовых паразитических ракообразных лишена кишечника, который не возникает и после метаморфоза на эндопаразитической стадии жизненного цикла (см. Исаева, Шукалюк, 2007).

У позвоночных животных разнообразие гаструляции меньше по сравнению с беспозвоночными и зависит главным образом от количества и распределения желтка. У низших позвоночных накопление желтка и телолецитальность яиц привела к развитию неравномерной целобластулы, в стенках которой клетки располагаются несколькими слоями, из-за чего инвагинация становится невозможной и обычно комбинируется с эпиболией, а энтероцельное образование целома сменилось процессом, напоминающим эпиболию (Иванова-Казас 1995). Эти особенности подготовили независимое возникновение меробластического типа развития у миксин, селяхий и костистых рыб, при котором наблюдается дискоидальное дробление, а в процессах обособления зачатков все более важную роль начинает играть деламинация. У осетровых рыб с телолецитальными яйцами и полным неравномерным дроблением гаструляция осуществляется путем инвагинации с последующим обрастанием. У костистых рыб с полилецитальными яйцами и неполным дискоидальным дроблением идут процессы расслоения или погружения клеток под бластодиск, а также перераспределения клеток, с последующим обрастанием желтка (Ballard, 1966, 1982; Warga, Kimmel, 1990; Пальмбах, Озернюк, 1975).

Процессы гаструляции амфибий включают впячивание, обрастание, иммиграцию, деламинацию и переупаковку клеток (Белоусов, 2005). У

птиц и рептилий с типичным для них меробластическим дискоидальным дроблением морфогенетические перемещения клеток при гаструляции, как и у костистых рыб, распадаются на два основных процесса: обрастание желточной массы бластодиском и собственно образование зародышевых листков за счет деламинации и клеточной иммиграции (Иванова-Казас, 1995). Возникновение у наземных позвоночных системы защитных эмбриональных оболочек и других провизорных органов привело к выработке еще одного типа развития с двумя подтипами: у Sauropsida произошло дальнейшее усиление признаков меробластического типа, а у Mammalia – связанный с плацентарным живорождением возврат к полному дроблению и смена функций провизорных органов (Иванова-Казас 1995).

У позвоночных животных *Hox*-гены различных кластеров начинают активироваться на стадии гаструляции, в зоне, где появляется клеточный материал для всех зародышевых листков; миграция и ингрессия клеток эпибласта в первичную полоску у куриного эмбриона связана с упорядоченной во времени транскрипции *Hox*-генов (см. Андреева, Кулакова, 2008; Корчагина и др., 2010).

Биение ресничек гензеновского узелка, временно возникающего на стадии гаструлы, играет у позвоночных животных ключевую роль в появлении асимметрии расположения внутренних органов. Исходным толчком к выяснению этого механизма послужило исследование генетически обусловленной аномалии человека, названной синдромом Картагенера. Примерно у половины из числа людей с этим синдромом расположение внутренних органов зеркально по отношению к нормальному (situs inversus), что коррелирует с аберрантным строением аксонем ресничек и отсутствием динеиновых структур, необходимых для их подвижности. На вентральной поверхности гензеновского узелка нормальных эмбрионов располагаются моноцилиарные клетки, реснички которых активно вращаются, генерируя направленный влево поток жидкости (см. Hirokawa et al., 2009; Schier, 2009). Именно физическое направление этого потока определяет будущую асимметрию внутренних органов тела позвоночных животных, включая экспрессию генов *nodal* и *lefty* в левой латеральной пластинке мезодермы (Hirokawa et al., 2009).

Таким образом, период гаструляции характеризуется клеточной подвижностью, морфогенетическими перемещениями отдельных клеток и эпителиальных слоев с образованием второго и третьего зародышевых листков и включением подпрограмм региональной спецификации. Появление эпителиальных слоев обеспечило возможность дальнейших эпителиальных морфогенезов и преобразований топологической организации Metazoa, ведущих к усложнению морфологии и интенсификации жизнедеятельности (Isaeva et al., 2006, 2008, 2012). В разных таксонах билатеральных животных проявляются гетерохронные и гетеротопные

сдвиги при возникновении мезодермы. Энтероцельный способ возникновения мезодермы путем эпителиального морфогенеза можно рассматривать как плезиоморфную черту вторичноротых, модифицируемую у хордовых.

Прямое и непрямое развитие

Два типа постэмбрионального развития, прямое и непрямое, различаются тем, что в первом случае из яйца выходит животное, обладающее дефинитивным строением, а непрямое развитие характеризуется присутствием личиночной стадии с заметными отличиями от взрослой формы и метаморфозом при переходе от личинки к ювенильному организму. При развитии с личинкой онтогенез распадается на два этапа: сначала действует «установка на личинку» (Иванов, 1937), а затем – на взрослое животное (Иванова-Казас, 1995), с переключением программы развития при метаморфозе.

Жизненный цикл с чередованием микроскопической личинки и макроскопического взрослого организма обычен для беспозвоночных и включает два оптимума селекции, направленной соответственно на расселение личинок и на репродукцию взрослых животных (Kasyanov, 2001). Первичные ресничные личинки – особая фаза жизненного цикла с функцией расселения; личинки такого типа морфологически, физиологически и экологически отличны от взрослых животных. Например, личинки иглокожих обитают в планктоне, малы по размеру, билатерально симметричны, снабжены ресничными структурами, обеспечивающими питание и локомоцию, тогда как взрослые иглокожие – пентамерные малоподвижные бентосные животные с совершенно другим образом жизни, способом передвижения и питания. Первичные личинки имеют простое строение у низших многоклеточных животных – губок и книдарий, но принимают специализированную форму в более продвинутых группах.

Многие авторы рассматривают двуфазный пелагобентический жизненный цикл с планктотрофными личинками как первичный для Metazoa, и пелагическую личиночную стадию – как сохранившееся анцестральное состояние. Прямое развитие, неоднократно и независимо возникавшее в разных таксонах, считают производным (Иванова-Казас, 1995; Davidson et al., 1995; Nielsen, 1998, 2013; Kasyanov, 2001; Erwin, Davidson, 2002; Davidson, 2006; Кулакова и др., 2010). Согласно филогенетическому сценарию, предложенному Дэвидсоном (Davidson, 1991; Peterson, Davidson, 2000; см. также Minelli, 2015a), сложный план строения взрослых билатеральных животных возник как эволюционное новшество в результате усложнения генных регуляторных сетей. Развитие взрослых животных стало возможным благодаря появлению недифференцированных резервных клеток, запасенных у личинок для последующего мор-

фогенеза. Генерация программы развития с возникновением запасных стволовых клеток способствовала появлению высших Metazoa (Davidson et al., 1995; Davidson, 2006).

Найдено немало примеров эволюционного перехода от личиночного развития к прямому, даже в переделах одного рода (Nielsen, 2013; Minelli, 2015a), но несомненные примеры эволюции в противоположном направлении отсутствуют (Nielsen, 2013) или редки (см. Minelli, 2015a). Однако существует и противоположное представление о первичности прямого развития и вторичном появлении личиночной фазы как вставки (интеркаляции) в исходный жизненный цикл (Иванов, 1937; Jenner, 2000, 2001; Raff, Raff, 2009).

Для первичноротых, прежде всего надтипа Trochozoa (Иванов, 1983), и большинства Lophotrochozoa первичной признана трохофороподобная личинка, имеющая ресничную систему с мультицилиарными (как правило) клетками, направляющую вниз поток воды как источник питания. Для Deuterostomia исходным типом первичной личинки, вероятно, была диплеврулоподобная личинка с ресничными шнурами, образованными моноцилиарными клетками, направляющими поток воды вверх (Nielsen, 1994, 2008). Личиночный апикальный ганглий, найденный почти у всех видов с ресничной личинкой и исчезающий при метаморфозе – вероятная синапоморфия всех Eumetazoa (Nielsen, 2008).

Все существующие первичные личинки могут быть выведены из ресничной личинки атрохного типа (лишенных ресничных колец или шнуров) (Иванова-Казас, 1995). Поперечные кольца ресничек, по-видимому, наиболее целесообразны для выполнения локомоторной функции. Реснички, служащие для транспортировки пищевых частиц, покрывают относительно большую поверхность тела личинки вблизи ротового отверстия: адоральную зону трохофоры или околоротовую впадину диплеврулы. Поперечные ресничные кольца политрохных личинок, например, долиолярий морских лилий, служат расселительной функции. Прототрох личинок трохофорного типа, вероятно, возник как локомоторный орган. Личинки типа диплеврулы приспособлены в большей мере к парению в воде (Иванова-Казас, 1995). На рис. 57 представлено разнообразие и предполагаемые эволюционные отношения ресничных личинок.

В развитии первичных личинок морского ежа *Hox*-гены играют небольшую роль; транскрипция *Hox*-кластера включается при метаморфозе (Raff, Raff, 2009). У полихет экспрессия генов *Hox*-кластера начинается уже на стадии трохофоры, продолжаясь на последующих стадиях метатрохофоры и нектохеты; *Hox*-гены используются для построения тела сегментированной личинки (Kulakova et al., 2007; Корчагина и др., 2010; Bakalenko et al., 2013). Таким образом, у животных с первичной личинкой происходит смена программы развития в ходе метаморфоза.

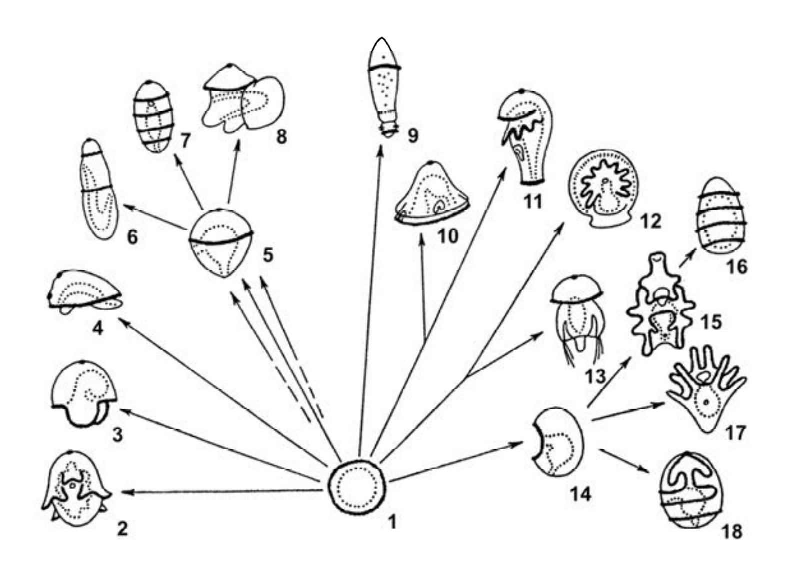


Рис. 57. Эволюция ресничных личинок: 1 – паренхимулоподобная атрохула; 2 – мюллеровская личинка; 3 – пилидий; 4 – личинка Kamptozoa; 5 – трохофора; 6 – пелагосфера; 7 – политрохная метатрохофора; 8 – велигер; 9 – личинка Pogonophora; 10 – цифонаут; 11 – актинотроха; 12 – личинка Ecardines; 13 – умбеллярия Testicardines; 14 – диплеврула; 15 – аурикулярия и бипиннария; 16 – долиолярия; 17 – офио- и эхиноплутеусы; 18 – торнария (Иванова-Казас, 1995).

При педоморфозе возможно приобретение личинками полового размножения. Личинки иглокожих и некоторых других животных способны к естественному клонированию – бесполому размножению путем почкования и фрагментации, с образованием вторичных личинок (Jaeckle, 1994; Rinkevich et al., 2009). У личинок мшанок также возникло бесполое размножение, поколение оозооида представлено личинкой, которая после прикрепления дает начало одной, реже – двум почкам и погибает, не завершив метаморфоза (Иванова-Казас, 1995).

У личинок нередко проявляются гетерохронии. Например, на стадии велигера у моллюсков частично совмещены черты трохофоры и взрослого моллюска (присутствие раковины), что трактуется как сдвиг признаков взрослых животных на личиночные стадии (адультация) (Иванова-Казас, 1995), вариант гетерохронии. У таких моллюсков гетерохрония проявляется уже на стадии гаструляции: одновременно с появлением архентерона наблюдается другое эпителиальное впячивание – формирование раковинной железы.

У представителей всех классов иглокожих, кроме морских лилий, наблюдается как личиночное планктотрофное развитие (с личинкой, питающейся фитопланктоном), так и прямое, ускоренное лецитотрофное раз-

витие с морфологически существенно измененной личинкой. У морских лилий (Crinoidea) найдены лишь лецитотрофные личинки, именуемые долиоляриями. Морфология поздних планктотрофных личинок (у морских звезд это брахиолярия, офиур – офиоплутеус, морских ежей – эхиноплутеус, у голотурий – аурикулярия), в начале метаморфоза, а также лецитотрофных личинок всех пяти классов современных иглокожих представлена на рис. 58.

Как уже упоминалось, у морского ежа *Heliocidaris erythrogramma* вторично возникло прямое развитие без планктотрофного плутеуса, что позволило проследить резкие изменения раннего развития и личиноч-

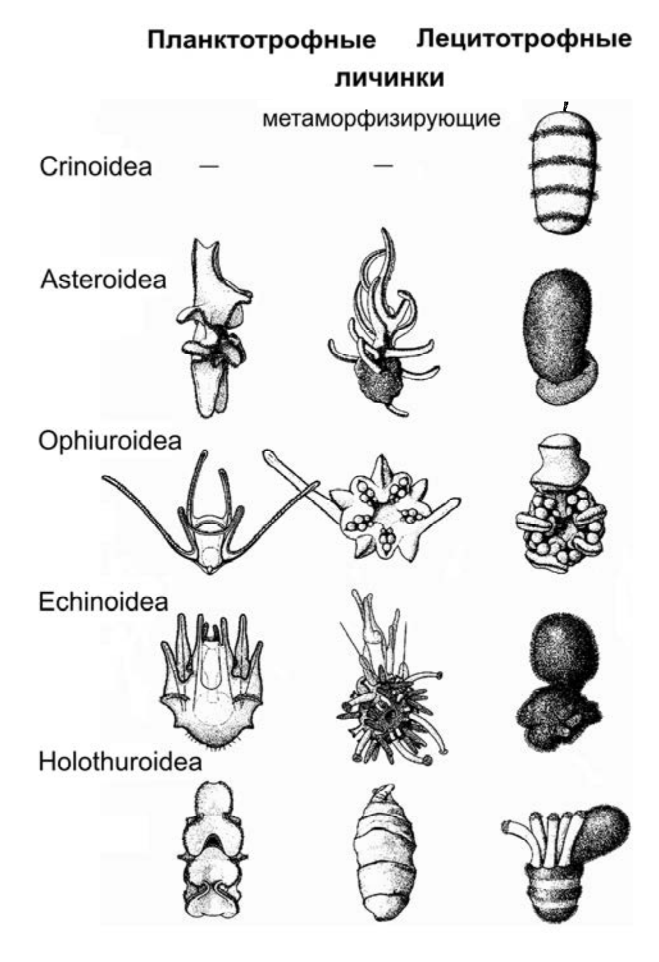


Рис. 58. Планктотрофные и лецитотрофные личинки различных представителей классов иглокожих; показана морфология полностью выросших и метаморфизирующих планктотрофных личинок (по Nielsen, 2012).

ной морфологии (Wray, Raff, 1989; Hinman et al., 2003; Raff, Raff, 2009; Arnone et al., 2015). Плутеус морского ежа того же рода, *Heliocidaris tuberculata* обладает длинными, покрытыми ресничками, отростками, используемыми для локомоции и питания; каждый из них поддерживается скелетными кальцитными иглами. При развитии *H. erythrogramma* утрачены эти отростки и скелетные иглы личиночного скелета. Прямое развитие возникло независимо в нескольких линиях морских ежей. Наблюдается замечательное сходство такого развития у разных морских ежей, т.е. конвергентная эволюция прямого развития (Wray, Raff, 1989; Hinman et al., 2003; Raff, Raff, 2009). Таким образом, личинки способны эволюционировать, иногда очень быстро – разумеется, по геологическим меркам (Raff, Raff, 2009; Arnone et al., 2015).

Ускоренное лецитотрофное развитие может вовлекать гетерохронии, включающие детерминацию в ходе оогенеза не только переднезаднего осевого паттерна, но также дорсовентрального, а иногда и латеральной асимметрии плана строения. Преформация дорсовентральной оси связана с ускорением развития, наблюдаемым у *H. erythrogramma* (Raff, Raff, 2009). У этого вида морского ежа произошла существенная реорганизация материнской «программы» с включением в нее процессов, происходящих у зародышей морских ежей с личиночным развитием. Последующее формирование личиночной лево-правой оси также происходит преждевременно, гетерохронно – через 24 часа после оплодотворения, тогда как у питающихся личинок это наблюдается лишь через месяц после оплодотворения (Raff, Raff, 2009). В ходе непрямого развития морских ежей дважды используется сигнальная система Nodal: сначала белок Nodal экспрессируется на вентральной стороне и создает сигнальный градиент, устанавливающий дорсо-вентральную ось, а затем этот белок экспрессируется на правой стороне, определяя становление лево-правой оси. Таким образом, при прямом развитии *H. erythrogramma* события резко ускорены и гетерохронно сдвинуты (Raff, Raff, 2009).

Значительные изменения исходной предковой организации наблюдаются у лецитотрофных личинок других таксонов. Например, личинки мшанок лишены энтодермы и кишечника (Иванова-Казас, 1995); кишечник, рот и анус отсутствует и у лецитотрофных личинок корнеголовых ракообразных – в обоих случаях наблюдается полное выпадение программы развития энтодермы.

Сравнительное изучение нейрогенеза представителей трохофорных животных показало, что самые ранние пионерные транзиторные нейроны дифференцируются у моллюсков и аннелид уже на стадии ранней трохофоры. Длинные отростки этих нейронов формируют контур будущей центральной нервной системы. Следующими по времени появляются сенсорные нейроны апикального органа, обеспечивающие реализацию адаптивных приспособительных программ личинок. Лишь позже

появляются первые дифференцированные нейроны (Воронежская, Хабарова, 2004; Voronezhskaya et al., 2003, 2004).

У высших представителей различных ветвей животного мира (головоногих моллюсков, членистоногих и позвоночных) первичные личинки исчезли, развитие стало прямым либо появились вторичные личинки (Иванова-Казас, 1995; Raff, Raff, 2009). Появление вторичной личинки путем вставки в онтогенез свидетельствует о модулярности развития (Jenner, 2000, 2001). Вторичное возникновение личиночной фазы онтогенеза могло происходить путем интерполяции (переноса) черт позднего развития на более ранние стадии. Предполагается, что генетической основой интерполяции новых черт служит кооптирование используемых взрослыми животными генов, в процессы, протекающие на более ранних стадиях развития; кооптирование происходит путем изменения регуляторных областей этих генов (Raff, Raff, 2009). Интерполяция означает, в сущности, гетерохронию.

Членистоногие и все другие представители Ecdysozoa лишены классической первичной, ресничной личинки, что коррелирует с возникновением хитиновой кутикулы и утратой ресничек наружных покровов тела. Вторичные личинки есть у многих морских членистоногих, пример такой личинки – науплиус ракообразных. Показана высокая степень пластичности морфофункциональной организации вторичных личинок ракообразных (Anger, 2006). Потеря ресничек у Ecdysozoa и обусловленное этим отсутствие первичной личинки – синапоморфия этой ветви животных.

У всех хордовых отсутствуют первичные личинки. Последние следы этой онтогенетической стадии наблюдаются у ланцетника, из яйца которого выходит нейрула, снабженная ресничками и плавающая около двух суток, после чего опускающаяся на дно (Иванова-Казас, 1995). Личинка миноги, ведущая роющий образ жизни в течение 3–4 лет, так сильно отличается от взрослого животного, что была описана как самостоятельное животное *Ammocoetes* (пескоройка). Подвижные хвостатые вторичные личинки типичного для хордовых плана строения появились у асцидий и амфибий. Личиночную фазу нередко выделяют при исследовании развития рыб. Ювенильные угри, обычно именуемые личинками, как известно, переносятся течением Гольфстрим, совершая путешествие из Саргассова моря. Если подходить к развитию рыб с теми же общеэмбриологическими мерками, что и к другим животным, все стадии постэмбрионального развития рыб следует признать ювенильными, называть их личиночными можно только при наличии специализированных личиночных признаков (Иванова-Казас, 1995).

У вторичных личинок амфибий, как и у беспозвоночных животных, характер дробления и скорость развития зародышей зависят от размеров яиц и запасов желтка, что прослеживается, в частности, среди хвостатых

амфибий: у форм, обладающих крупными яйцами, развитие вплоть до метаморфоза протекает в яйце и молодь появляется с хорошо сформированными конечностями; в то же время у видов с мелкой икрой из яиц выходят личинки, не имеющие развитых конечностей (Воробьева, 2010а, б; Elinson et al., 2011). У вторичных личинок асцидий хвост головастика может быть потерян в результате мутации одного гена: у асцидии *Molgula oculata*, имеющей личинку с хвостом, экспрессируется ген *Manx*, и белок Manx присутствует в урохорде, мышцах хвоста и дорсальной нервной трубке; у другого вида того же рода с бесхвостой личинкой экспрессия гена *Manx* отсутствует (Swalla, Jeffery, 1996; Stolfi, Brown, 2015). У личинок асцидий нередко проявляются гетерохронии в форме адультации – преждевременного развития структур взрослого организма в эмбриогенезе или личиночной стадии (см. Stolfi, Brown, 2015).

Двухфазный жизненный цикл дает возможность использования ресурсов двух различных сред обитания, у водных организмов – планктонной и бентосной. Перемещение личинок морских животных вносит важный вклад в динамику их популяций и распространение видов (см. Scheltema, 1986; Pineda et al., 2007). У водных организмов основная функция личинок – расселение и поиск места обитания (Ghiselin, 1987; Иванова-Казас, 1995), тогда как главной функцией вторичных личинок насекомых является питание и накопление запасных питательных веществ. Личинки морских организмов способны к трансокеаническим перемещениям (Scheltema, Williams, 1983; Sheltema, 1986; Pineda et al., 2007; Cowen, Sponaugle, 2009). Способность к распространению на большие расстояния коррелирует с длительностью личиночного периода (Paulay, Meyer, 2006). При невозможности оседания на подходящий субстрат или недостатке питания длительность жизни личинок значительно увеличивается (Miller, Hadfield, 1990; Kasyanov, 2001; Strathmann, Strathmann, 2007).

Таким образом, личиночная фаза онтогенеза весьма пластична. Успех жизненных стратегий водных организмов зависит от выживания личинок, и выбор личинкой субстрата для оседания и метаморфоза выполняет функцию «бутылочного горлышка» при естественном отборе (Anger, 2006).

Метаморфоз. После оседания личинок морских беспозвоночных в зависимости от степени перестройки плана строения, уровня резорбции и быстроты изменений личиночных тканей наблюдается катастрофический или постепенный метаморфоз. Метаморфоз характеризуется апоптозом (см., например, Seipp et al. 2001; Sato et al., 2006), значительно более выраженным при катастрофическом метаморфозе с радикальным преобразованием плана строения. Этот вид метаморфоза, сопровождаемый гибелью значительной части тела личинки (некробиотический метаморфоз), наблюдается, например, у мшанок и иглокожих. Очевидно,

что столь драматические изменения личинок при метаморфозе связаны с переключением субпрограммы индивидуального развития.

Катастрофическим оказывается и метаморфоз вторичных личинок многих Ecdysozoa и Deuterostomia. Метаморфоз личинок корнеголовых паразитических ракообразных при внедрении в организм хозяина ведет к катастрофическому преобразованию с утратой морфологических признаков членистоногих у эндопаразитов женского пола и еще большей редукции мужского пола – до линии сперматогенных клеток (см. Исаева, Шукалюк, 2007; Исаева и др., 2008). У насекомых с полным превращением, Holometabola после ряда линек личинки и ее окукливания зачатки конечностей, крыльев, глаз, половых придатков будущего имаго развиваются из имагинальных дисков, реорганизуется мускулатура, нервная система и кишечник. В ходе дегенерации средней кишки идут процессы апоптоза с последующим некрозом (Rost-Roszkowska, 2008). Показана экспрессия специфического набора генов в ходе личиночной линьки и метаморфоза чешуекрылого насекомого *Helicoverpa armigera* (Dong et al., 2007). События постэмбрионального перехода от так называемой личинки нематод к дефинитивному состоянию названы переключением развития от личинки к взрослому организму. События, связанные с этим переходом, вовлекают координированные изменения гиподермальных клеток при четвертой линьке: прекращение делений клеток и линек, формирование кутикулы взрослого червя; контролируются они группой генов *lin* (Ambrose, 1989).

У асцидий при переходе к сидячему образу жизни взрослых особей осуществляется некробиотический метаморфоз с радикальной перестройкой плана строения; такой метаморфоз рассматривался О.М. Ивановой-Казас (1995) как катастрофический, но другие авторы (Nielsen, 2012; Stolfi, Brown, 2015) полагают, что метаморфоз оболочников не столь катастрофичен, как у иглокожих с личиночным развитием. Типичный для хордовых план строения подвижной личинки-головастика утрачивается у колониальных асцидий в ходе метаморфоза вместе с индивидуальностью организма и потерей прежней нервной, кишечной и кардиоваскулярной систем личинки. Метаморфоз с прекращением питания претерпевает личинка ланцетника. Постэмбриональное развитие низших позвоночных, например, круглоротых, нередко сопровождается довольно значительными морфологическими изменениями, которые можно называть метаморфозом (Иванова-Казас, 1995; Ishizuya-Oka et al., 2010).

Существенные изменения происходят во время постэмбрионального развития некоторых рыб, но превращение во взрослое животное происходит постепенно и сравнимо с неполным метаморфозом Hemimetabola среди насекомых. Например, мальки камбалы, обладающие билатеральной симметрией, после перехода от пелагического к донному образу жизни приобретают характерную асимметрию строения.

Более глубокие изменения происходят при метаморфозе амфибий, связанном с выходом на сушу и сменой способа передвижения, дыхания и питания. Метаморфоз головастиков, вторичных личинок амфибий, наступление которого контролируется тироксином, вовлекает существенную перестройку организации тела, включающую как массовый апоптоз клеток при резорбции жабер и хвоста, так и размножение клеток в процессах роста мозга, конечностей (Schreiber et al., 2001; Ishizuya-Oka et al., 2010).

Таким образом, одно и то же животное в ходе своего онтогенеза может использовать разные программы развития: эмбриональную для формирования первичной личинки, личиночную (ларвальную) для построения вторичной сегментированной личинки, и постларвальную – для формирования дефинитивного организма. Такой «трёхступенчатый» онтогенез показан на примере нереидных полихет (Кулакова и др., 2010; Bakalenko et al., 2013; Bleidorn et al., 2015).

Эмбриогенез растений

Механизмы развития растений и животных возникли независимо. Последний общий предок животных и растений – одноклеточный эукариотический организм (Jürgens, 2003; Singer 2010). При половом размножении растения, как и животные, развиваются из одноклеточной зиготы. Первое деление зиготы растений асимметрично (см. Park, Harada, 2008; Singer 2010; Davies 2013).

Зиготы фукоидных водорослей, *Fucus* и *Silvetia* (*Pelvetia*) – удобная модель для исследования процессов установления клеточной полярности и асимметричного деления (Brawley, Robinson, 1985; Bisgrove et al., 2003). Сферическая симметрия яйцеклетки при оплодотворении сменяется осевой симметрией: место вхождения спермия определяет полюс ризоида и осевую полярность будущего организма (подобно тому, что найдено у некоторых нематод), однако внешние воздействия еще способны повлиять на полярность зиготы (Hable, Kropf, 2000; Bisgrove et al., 2003). Первое деление зиготы фукоидных водорослей дает две клетки, различные по морфологии и судьбе клеток будущих ризоида и таллома (рис. 59).

Таким образом, в раннем развитии фукоидных водорослей митотическое деление эмбриональных клеток происходит одновременно с ростом и морфогенезом зародыша. Как известно, цитоскелет клеток растений включает систему микротрубочек и актиновых филаментов (Jürgens, 2003; Langdale, Harrison, 2008; Singer 2010; Davies 2013). Поляризация зиготы фукоидов проявляется, в частности, в концентрации фибриллярного актина на полюсе ризоида. Полярность развивающегося зародыша при обработке цитохалазином, ингибитором полимеризации актина, по-

давляется (Brawley, Robinson, 1985) или нарушается (Исаева, 1990, 1994).

В отличие от животных, жизненный цикл наземных и многих других растений включает и диплоидную, и гаплоидную многоклеточные стадии, т.е. чередование двух морфологически различных генераций многоклеточных тел растений, спорофита и гаметофита (см. Taiz, Zeiger, 2003; Langdale, Harrison, 2008; Singer 2010). У высших растений гаплоидный гаметофит значительно редуцирован. Генерация спорофита у наземных растений становится доминирующей диплоидной многоклеточной формой, с трехмерными тканями, стволовыми клетками меристем и плацентоподобной связью между гаплоидной и диплоидной фазами роста (см. Langdale, Harrison, 2008; Singer, 2010).

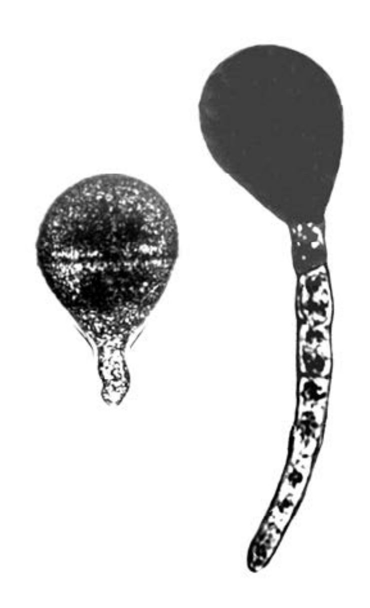


Рис. 59. Ранее развитие бурой фукоидной водоросли *Silvetia wrightii*: слева – клетки таллома и ризоида; справа – более поздний зародыш с несколькими клетками растущего ризоида; клетки таллома неразличимы (Исаева, 1990).

У растений наблюдается спорический, а не гаметический мейоз, т.е. у них мейоз дает споры, а не гаметы; гаметы растений возникают путем митотических делений после мейоза (Singer, 2010). Наиболее тщательно изучено развитие высших, цветковых растений, прежде всего модельного объекта *Arabidopsis thaliana*, сравнимого по значению для исследования биологии и генетики развития растений с дрозофилой у животных (Taiz, Zeiger, 2003).

Диплоидный спорофит растений путем мейоза образует гаплоидные споры; каждая спора, митотически делясь, дает многоклеточный гаплоидный гаметофит, продуцирующий гаметы (Singer, 2010). Мегаспоры образуют женский гаметофит, микроспоры – мужской гаметофит (пыльцевое зерно). Внутри мегаспорангия в результате мейоза возникают четыре мегаспоры, из которых выживает одна крупная мегаспора, образующая женский гаметофит в результате трех митотических делений (Taiz, Zeiger, 2003; Singer, 2010; Gutierres-Mora et al., 2012).

Женский гаметофит (эмбриональный мешок) состоит из семи клеток и восьми гаплоидных ядер. Одна из семи клеток – яйцевая; центральная клетка содержит два ядра (именуемых полярными); остальные шесть, включая яйцеклетку, содержат по одному гаплоидному ядру. Рядом с яйцеклеткой располагаются две синергиды, на противоположном полюсе змбрионального мешка – три клетки (антиподы); все эти клетки выполняют вспомогательные функции (Singer, 2010; Gutierres-Mora et

al., 2012). Многоклеточные мужской и женский гаметофиты, имеющие различную морфологию, развиваются внутри пестика цветка растения-спорофита (рис. 60).

Мужской гаметофит (многоклеточное пыльцевое зерно) возникает в результате немногих митотических делений микроспоры, образующей-ся путем мейоза клетки микроспорангия внутри пыльника. Зрелое пыльцевое зерно состоит из двух клеток, одна из которых дает затем пыльцевую трубку, и генеративной клетки, локализованной внутри клетки трубки. Генеративная клетка делится, давая два спермия. Оплодотворение происходит, когда мужской гаметофит образует пыльцевую трубку, растущую к зародышевому мешку и проникающую в него через микропиле (рис. 60). Активное перемещение и рост вершины пыльцевой трубки (лишенной ригидной клеточной стенки) зависят от полимеризации фибриллярного актина (Baluška et al., 2004; Davies, 2013). В цитоплазме пыльцевой трубки располагаются два спермия, что является достаточно редким примером локализации клеток внутри другой клетки (Baluška et al., 2004).

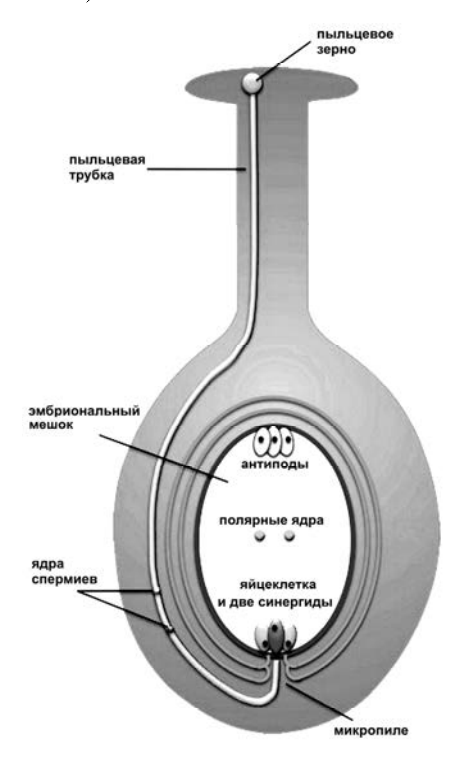


Рис. 60. Женский и мужской гаметофиты в пестике цветкового растения (по Gutierres-Mora et al., 2012).

После слияния одного из двух спермиев с яйцеклеткой возникает зигота, дающая начало следующей генерации многоклеточного диплоидного спорофита (см. Taiz, Zeiger, 2003; Singer 2010). Второй спермий объединяется с двумя полярными ядрами с формированием триплоидного ядра эндосперма, выполняющего трофические функции для растущего эмбриона. Таким образом, для цветковых растений характерно двойное оплодотворение (Taiz, Zeiger, 2003; Singer 2010).

После оплодотворения зигота удлиняется по будущей апикально-базальной оси и затем ассимметрично делится. Апикальный конец зиготы содержит плотную цитоплазму, а базальная часть включает большую центральную вакуоль. Апикально-базальная полярность зародыша, вероятно, определяется анизотропией яйцеклетки (Hudson, 2000); осевой паттерн зародыша

устанавливается уже при первом делении зиготы (Jürgens, 2003; Taiz, Zeiger, 2003; Singer 2010). Генная экспрессия и судьба первых двух клеток зародыша различна: апикальная (проэмбриональная) клетка дает зародыш, базальная (экстраэмбриональная) делится горизонтально, образуя 6–8 клеток, которые, за исключением самой верхней клетки (гипофиза), формируют экстраэмбриональный суспензор (Taiz, Zeiger, 2003; Singer, 2010) (рис. 61).

Суспензор прикрепляет зародыш к материнскому растению, обеспечивая эмбрион питательными веществами и ростовыми факторами (Baluška et al., 2004; Singer, 2010); гипофиз образует базальную часть зародыша с частью корневой меристемы (Jürgens, 2003; Taiz, Zeiger, 2003; Singer, 2010).

После первого деления зиготы апикальная клетка претерпевает серию высоко упорядоченных делений, генерирующих восьмиклеточный глобулярный зародыш (октант), последующие деления клеток которого увеличивают их число. Зародыш стадии октанта состоит из двух квартетов клеток. Верхние четыре клетки дают начало апикальному региону, из которого развивается меристема побега и основная часть семядолей, тогда как нижний квартет образует остальную часть семядолей, гипокотиль (будущий стебель) и эмбриональный корень с клетками меристемы (Jürgens, 2003; Singer, 2010). Различные области зародыша различаются паттерном клеточных делений, генной экспрессией и клеточной судьбой (Meyerowitz, 2002; Carrington, Ambros, 2003; Park, Harada, 2008; Singer, 2010; Ueda et al., 2011).

Зародыш *Arabidopsis* проходит несколько стадий развития, именуемых в соответствии с формой зародыша; выделены следующие основные стадии: глобулярная, сердце, торпедо и поздний (зрелый) эмбрион (Goldberg et al., 1994; Jürgens, 2003; Taiz, Zeiger, 2003; Singer, 2010) (рис.

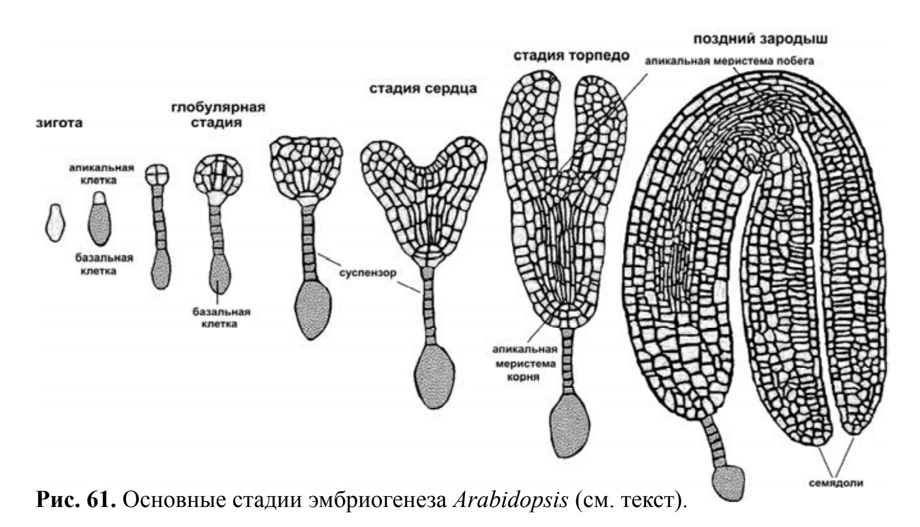


Рис. 61. Основные стадии эмбриогенеза *Arabidopsis* (см. текст).

61). Стадия сердца формируется путем быстрых делений клеток в двух регионах зародыша по обе стороны от будущей вершины побега, с образованием выростов, позже дающих начало семядолям. Формирование выростов на стадии торпедо – результат удлинения клеток и дальнейшего развития двух семядолей (у двудольных растений).

Таким образом, морфогенетические преобразования формы в эмбриогенезе растений осуществляются путем ориентированных делений клеток, различной скорости их митотической репродукции и последующего клеточного роста, – но не активного перемещения клеток, в отличие от развития животных. Активную миграцию, сравнимую с ростом аксона нейробластов, проявляет лишь пыльцевая трубка цветковых растений, покрытая плазматической мембраной и лишенная ригидной полисахаридной оболочки.

Высшие растения характеризуются супраклеточной организацией, включающей крупные симпластические компартменты множества клеток, цитоплазма которых связана десмосомами (Baluška et al., 2004), что способствует перемещению молекул, несущих важную для морфогенеза информацию, в частности, направленному транспорту ауксина (Willemsen, Scheres, 2004).

В процессе эмбриогенеза растений одноклеточная зигота преобразуется в многоклеточное эмбриональное растение, проросток, устанавливается основной апикально-базальный и радиальный паттерны тела, включающие первичные меристемы, которые создают большинство структур взрослого растения (Heidrstra, Sabatini, 2014). Важную роль в развитии растений играет асимметричное деление клеток (Heidstra, 2007; Singer, 2010; Davies, 2013). Двойное оплодотворение включает программы развития эндосперма, семени и плода. Семя развивается из зародыша и ассоциированных с ним структур. Как и у животных, в процессе развития и жизни растений проявляется морфогенетическая гибель клеток (Filonova et al., 2008); кстати, термин «апоптоз» исходно означает опадение листьев растений. В результате эмбриогенез и развитие семени ведут к формированию высоко упорядоченных, интегрированных структур (Jürgens, 2003; Taiz, Zeiger, 2003; Singer, 2010).

Данные сравнительной геномики показывают минимальную гомологию между генами и белками, используемыми для построения плана строения организма у растений и животных. Гены MADS-бокса и гомеобокса присутствовали у общего предка растений и животных; семейство генов, содержащих MADS-бокс, контролирует основные регуляторные механизмы развития у растений, но не у животных. Несмотря на такие различия, генетика развития выявляет определенную общность роли транскрипционных факторов в формировании плана строения и создания трехмерной формы из одной клетки у растений и животных (см. Meyerowitz 2002; Park, Harada, 2008; Singer, 2010).

Глава 9. СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КАК РЕСУРС РАЗВИТИЯ И РАЗМНОЖЕНИЯ ОРГАНИЗМА

Системы стволовых клеток многоклеточных организмов

У всех многоклеточных организмов возникла та или иная система стволовых клеток, способных к самообновлению и дифференцировке в специализированные клеточные типы. У животных существуют два основных типа стволовых клеток: клетки половой и соматических линий (Hogan, 2001; Rinkevich, 2009; Srouji, Extavour, 2011). Стволовые клетки половой линии обеспечивают половое размножение, стволовые клетки зародышей – эмбриогенез, иногда и бластогенез (полиэмбрионию, бесполое размножение личинок и т.п.); стволовые клетки взрослых организмов поддерживают тканевой гомеостаз, осуществляя физиологическую и репаративную регенерацию. Стволовые клетки взрослых организмов многих таксонов формируют клеточный ресурс полового и бесполого размножения. Таким образом, система стволовых клеток обеспечивает развитие, репродукцию и выживание всех многоклеточных организмов.

Согласно общепринятым представлениям, стволовые клетки зародышей или взрослых организмов способны к самообновлению и последующей дифференцировке. Самообновление – способность стволовых клеток к митотической репродукции в течение длительного периода, а в случае взрослого организма – на протяжении всей жизни (Smith, 2001; Weissman et al., 2001; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009). В зависимости от широты потенциального спектра клеточной дифференцировки различают тотипотентные, плюрипотентные, мультипотентные, олигопотентные и унипотентные стволовые клетки, но использование этой терминологии не унифицировано и иногда противоречиво (Smith, 2001; Müller, 2006; Исаева, 2010; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009; Isaeva, 2011). Тотипотентные клетки могут дать начало всем клеточным типам развивающегося организма; к примеру, тотипотентны бластомеры ранних зародышей млекопитающих. У животных лишь бластомеры ранних зародышей с регулятивным типом развития могут становиться функционально подобными зиготе и обеспечивать развитие целого зародыша (меньшего размера) из одной клетки. При экспериментальном клонировании позвоночных животных развитие организма возможно только при пересадке ядра соматической клетки в ооплазму яйцеклетки, что обусловлено сложностью создаваемой в ходе оогенеза поляризованной архитектоники с гетерогенным распределением информационных РНК, других макромолекул, макромолекулярных комплексов и органоидов.

Стволовые клетки размножающихся бесполым путем беспозвоночных рассматривают как тотипотентные (если показана их способность диф-

ференцироваться в гаметы и все соматические клетки организма, как у планарий), плюрипотентные либо мультипотентные (см. Исаева и др., 2007; 2008; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009; Isaeva, 2011).

Клетки женской половой линии традиционно, начиная с книг А. Вейсмана (Weismann, 1883, 1892), принято рассматривать как единственные клетки, способные формировать новый организм животного; непрерывная линия таких половых клеток переходит от поколения к поколению, оказываясь бессмертной, в отличие от соматических клеток организма. Для животных с половым размножением характерно однократное обособление стволовых клеток половой линии в ходе эмбриогенеза. У беспозвоночных с бесполым размножением стволовые клетки, обеспечивающие и половое размножение, и бластогенез, поддерживаются в течение всей жизни организма или колонии. Таким образом, клеточной основой клонального морфогенеза животных при бесполом размножении служат стволовые клетки с широким или неограниченным морфогенетическим потенциалом, способные и к гаметогенезу, и к дифференцировке во все или многие типы соматических клеток.

Дэвидсон и коллеги развили гипотезу «отложенных», резервных, запасенных для будущего морфогенеза клеток (Davidson et al., 1995; Cameron et al., 1998; Jenner, 2000; Collins, Valentine, 2001). Так были названы комплексы клеток личинки, дающие начало дефинитивному организму у животных с непрямым развитием после метаморфоза, когда множество личиночных клеток погибает (Cameron et al., 1998). Эти резервные клетки в ходе эмбриогенеза и личиночной стадии выключены из процесса дифференцировки, сохраняя практически неограниченную способность делиться и продуцировать новые популяции клеток взрослого организма (Davidson et al., 1995; Cameron et al., 1998).

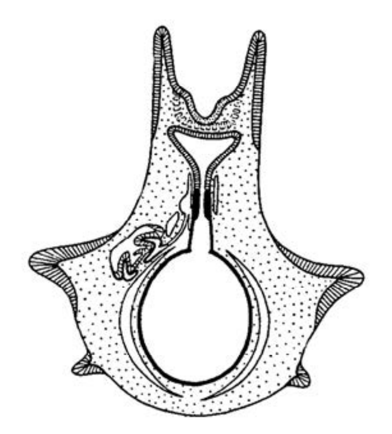


Рис. 62. Зачаток дефинитивного организма морского ежа на левой стороне тела личинки, плутеуса (по: Иванова-Казас, 1995).

В сущности, все стволовые клетки, включая гаметогенные, практически всех Metazoa, с личиночным либо прямым типом развития, представляют собой «отложенные», резервные клетки, запасенные для будущего развития и/или физиологической и репаративной регенерации (Isaeva, 2011, 2015, 2016; Shukalyuk, Isaeva, 2013).

При развитии морского ежа уже на стадии раннего плутеуса формируется так называемый рудимент, зачаток дефинитивного организма, располагающийся асимметрично, на левой стороне личиночного тела (рис. 62). В процессе метаморфоза этот зачаток выворачивается на-

ружу, превращаясь в миниатюрный организм ювенильного морского ежа, тогда как основная часть личиночного тела отбрасывается и погибает.

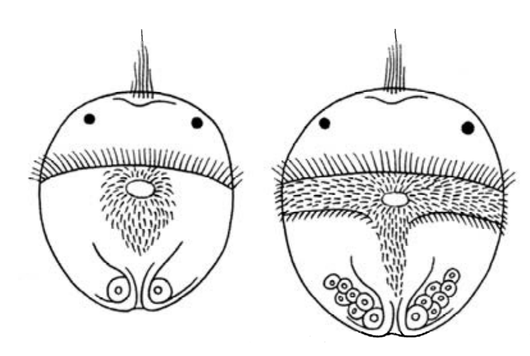


Рис. 63. Телобласты и мезодермальные полоски трохофоры (по: Иванова-Казас, 1995).

Органы и системы взрослого организма возникают не из дифференцированных клеток личиночных органов, а из плюрипотентных клеток, секвестрируемых, «откладываемых про запас» в ходе жизни личинки (Collins, Valentine, 2001). Резервные стволовые клетки в разных таксонах животных с личиночным развитием представлены телобластами, имагинальными дисками и подобными клетками и их группами. Например, у аннелид на стадии трохофоры, обособляются телобласты, крупные клетки, которые дают начало мезодермальным полоскам (рис. 63).

У полихет и других представителей аннелид после образования первых ларвальных сегментов в задней части тела личинки метатрохофоры появляется зона роста, где происходит пролиферация стволовых клеток и последовательно формируются (путем шизоцелии) постларвальные сегменты (рис. 64).

У личинок насекомых зачатки структур организма имаго представлены эпителиальными имагинальными дисками (рис. 65).

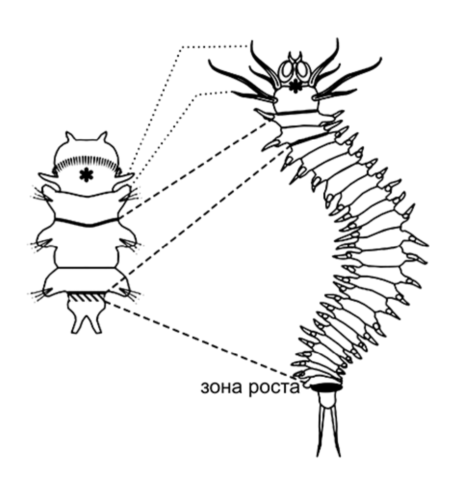


Рис. 64. Соотношение частей организма метатрохофоры и растущего организма полихеты; зона роста выделена черным (по: Bakalenko et al., 2013).

Эпителиальные зачатки, подобные имагинальным дискам, найдены также у личинок мшанок (Иванова-Казас, 1995) и некоторых немертин. Эпителиальные морфогенезы (наряду с миграцией одиночных клеток) наиболее выражены у вторичноротых животных, обеспечивая процессы гаструляции, нейруляции, энтероцельное образование мезодермы и множество последующих морфогенетических событий при формировании органов.

Разумеется, различные популяции стволовых клеток зародышей

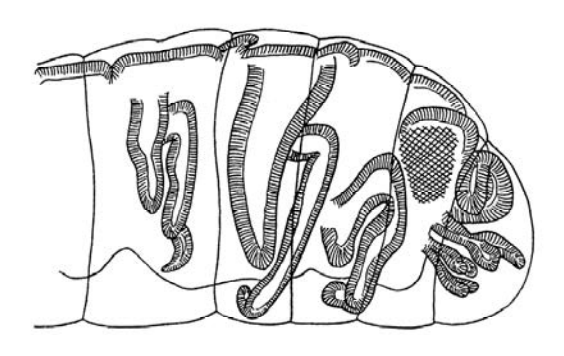


Рис. 65. Имагинальные диски осы *Nasonia* (Иванова-Казас, 1995).

возникли и в эволюции животных с прямым развитием; в частности, у позвоночных важный резерв развития создают плюрипотентные стволовые клетки нервного гребня (см. ниже).

Таким образом, стволовые клетки Metazoa представляют собой клеточный резерв, запасенный для будущего развития или восстановительных процессов. Клетки половой линии рано или поздно сегрегируются от всех соматических клеток эмбриона (Cinalli et al., 2008). Сохранение недифференцированного состояния и митотической активности популяций стволовых клеток у зародышей, личинок и взрослых животных (со сдвигом их дифференцировки на более поздние стадии онтогенеза) – проявление локальной гетерохронии. Различная локализация тех или иных популяций стволовых клеток у зародышей, личинок и взрослых животных разных таксонов – проявление гетеротопий. Появление новых популяций недифференцированных стволовых клеток рассматривается как локальный эмбриоморфоз, обеспечивающий увеличение размера организма, пластичность и разнообразие морфогенезов, что играло ключевую роль в эволюции многих таксонов животного мира, особенно вторичноротых–хордовых–позвоночных (Исаева и др., 2013; IИсаева, 2015a, 2016; Isaeva, 2015, 2016).

Детерминация линии гаметогенных клеток в развитии

Репродуктивная стратегия многоклеточных организмов может включать половое и бесполое размножение. У животных с исключительно половым размножением первичные половые клетки сегрегируются в ходе эмбриогенеза. Два основных типа спецификации клеток половой линии определены как преформация (ранняя спецификация половой линии путем асимметричного распределения материнских цитоплазматических детерминантов) и эпигенез, более поздняя спецификация линии половых клеток индукционными сигналами окружения (Extavour, Akam, 2003;

Extavour, 2008). Преформация названа также наследственным способом (inheritance mode), а эпигенез – индукционным способом (inductive mode) спецификации клеток половой линии (Srouji, Extavour, 2011).

У размножающихся бесполым путем животных, стволовые клетки которых способны дифференцироваться в половые и соматические в течение жизни индивида или колонии, признан третий вариант спецификации клеток половой линии – соматический эмбриогенез (Buss, 1987, 1999; Blackstone, Jasker, 2003; Frank et al., 2009; Rinckevich et al., 2009). Термин «соматический эмбриогенез», введенный Б.П. Токиным (1959) при разработке концепции развития целого организма из группы соматических клеток, становится широко используемым, однако, без ссылки на автора. Клональный морфогенез, названный соматическим эмбриогенезом, применительно к животным обычно именовался бластогенезом (Berrill, 1961; Иванова-Казас, 1977, 1996). У животных с соматическим эмбриогенезом половая линия не сегрегирована и у взрослого животного, гаметы которого дифференцируются из стволовых клеток (Blackstone, Jasker, 2003; Sköld et al., 2009).

Плюри/тотипотентные клетки таких животных дают клеточный материал, обеспечивающий гаметогенез, бесполое размножение и регенерацию (Исаева и др., 2007, 2009; Frank et al., 2009; Sköld et al., 2009; Isaeva, 2011). Стволовые клетки, потенциально способные стать соматическими либо первичными половыми, и морфологически неотличимые от клеток половой линии, названы первичными стволовыми клетками (Sköld et al., 2009). Плюрипотентные стволовые клетки размножающихся бесполым путем беспозвоночных сходны с первичными половыми клетками своей способностью к амебоидной подвижности и обширным миграциям в пределах организма, которые направлены соответственно к гонадам или местам бесполого размножения и регенерации (Исаева и др., 2009).

У исследованных представителей различных типов животных с бесполым размножением, от губок до асцидий, тоти/плюри/мультипотентные стволовые клетки способны к реализации полной программы развития, включающей гаметогенез (потенциально и эмбриогенез) и бластогенез. Примерами такого рода стволовых клеток служат археоциты губок (Simpson, 1984; Müller, 2006; Funayama, 2008; Funayama et al., 2010), интерстициальные клетки книдарий (Bosch, 2008; Frank et al., 2009), необласты планарий (Shibata et al., 1999; Peter et al., 2001; Isaeva et al., 2005), стволовые клетки колониальных корнеголовых ракообразных (Isaeva et al., 2004; Shukalyuk et al., 2005; Исаева, Шукалюк, 2007) и колониальных асцидий (Pancer et al., 1995; Stoner, Weissman, 1996; Stoner et al., 1999; Weissman, 2000; Ахмадиева и др., 2007).

Проблема клеточной линии с неограниченным морфогенетическим потенциалом восходит к теории «зародышевой плазмы» А. Вейсмана. Вейсман первым открыл и описал стволовые клетки (Stammzellen) мно-

гоклеточных животных и первичные половые клетки при детальном исследовании многих видов колониальных гидроидов (Weismann, 1883; см. также Frank et al., 2009). Исследования на гидроидах послужили основой для создания теории «зародышевой плазмы» (ядерного наследственного вещества, содержащего детерминанты половых клеток), передающейся от поколения к поколению (Weismann, 1892, 1893). Согласно Вейсману, стволовые клетки, сохраняющие зародышевую плазму, способны дифференцироваться в гаметы, обеспечивая непрерывность линии половых клеток, зародышевый путь с наследованием комплекса видоспецифичных признаков и продолжением жизни вида в ряду поколений. При этом именно А. Вейсман установил, что половые клетки гидроидов возникают из эмбрионального резерва недифференцированных клеток, и не связывал представление о линии половых клеток с ее ранним обособлением, примером которого он рассматривал развитие членистоногих (Weismann, 1892).

Идея ранней сегрегации линии половых клеток и их непрерывности в последовательных поколениях была впервые выдвинута Нуссбаумом (Nussbaum, 1880), приписавшим функцию поддержания зародышевого пути интерстициальным клеткам гидры. Вейсман рассматривал интерстициальные клетки как предшественники нематоцитов (Weismann, 1883). К настоящему времени показано, что интерстициальные клетки гидроидов – стволовые клетки, непрерывно находящиеся в митотическом цикле, – продуцируют и половые клетки, и некоторые типы соматических клеток (см. Bosch, 2008; Frank et al., 2009). Таким образом, гидроиды с их поздним выделением клеток половой линии, дифференцирующихся из интерстициальных клеток в течение всей жизни колонии наряду с некоторыми соматическими производными, парадоксальным образом оказались основным объектом исследований, породивших идею ранней сегрегации линии тотипотентных половых клеток (Nussbaum, 1880) и теории «половой плазмы» (Weismann, 1883, 1892, 1893). Вейсман полагал, что половые клетки сохраняют все наследственные факторы, тогда как соматические клетки теряют часть зародышевой плазмы и начального потенциала яйцевой клетки в ходе дифференциации (Weissman, 1892, 1893). Эта концепция критиковалась в свете знаний современной биологии (например, Frank et al., 2009). Но взгляды Вейсмана не были столь жесткими, как у некоторых его последователей – «Вейсман не был вейсманистом» (Winter, 2001). Он, в частности показал, что у гидроидов половые клетки дифференцируются не в период эмбриогенеза, а значительно позже, у поколений, возникших путем почкования (Weismann, 1883).

При бесполом размножении беспозвоночных животных, как правило, не одна единственная стволовая клетка, а их группа, агрегат нескольких или многих клеток дает начало новому организму или зооиду (Blackstone, Jasker, 2003; Rinkevich et al., 2009). Было экспериментально показано, что

одна клетка трипсинизированного цистицерка паразитической цестоды *Taenia crassiceps*, инъецированная в организм хозяина, может сформировать целый цистицерк (Toledo et al., 1997), но это редкое исключение из общего правила.

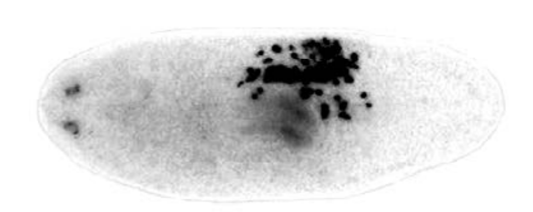


Рис. 66. Меченые потомки единственного необласта, трансплантированного в тело облученной планарии (по Wagner et al., 2011).

Показано также, что единственный трансплантированный необласт восстанавливает регенерационную способность планарии *Schmidtea mediterranea*, облученной летальной дозой рентгеновского излучения, но лишь после многих делений этого необласта, клон которого постепенно заселяет организм реципиента (Wagner et al., 2011) (рис. 66).

У корнеголовых ракообразных эндопаразитический организм развивается из немногих клеток, внесенных в организм хозяина личинкой паразита (см. Høeg, Lützen, 1995). Число стволовых клеток в самой ранней почке бластозооида колониальных корнеголовых *Peltogasterella gracilis* и *Polyascus polygenea*, по нашим данным, около 10–15 клеток (Исаева, 2010). Число стволовых клеток, способных образовать новый организм у книдарий, свободно живущих плоских червей и колониальных асцидий, оценивается как 100–300 клеток (Rinkevich et al., 2009). Подобное число археоцитов требуется для формирования целого организма пресноводной губки *Ephydatia fluviatilis*, как экспериментально определено Никитиным (1974), показавшим необходимость создания «критической массы» клеток для развития организма губки. «Эффект массы» объясняется созданием в клеточных агрегатах определенной концентрации необходимых метаболитов (Васильев, Гельфанд, 1981). «Критическая масса» клеток, возможно, требуется и для формирования индивида или бластозооида беспозвоночных животных.

Морфологические маркеры гаметогенных клеток

Недифференцированные стволовые клетки половой линии отличаются от соматических клеток высоким ядерно-цитоплазматическим отношением, крупным ядром с диффузным хроматином и большим отчетливым ядрышком, узким ободком недифференцированной цитоплазмы, включающей специфические структуры в виде герминальных гранул, или «зародышевой плазмы» (Extavour, Akam 2003; Extavour, 2008). Пример герминальных гранул показан на рис. 67.

«Зародышевая плазма», знаменитый термин Вейсмана (Weismann, 1892, 1893) теперь понимается метафорически. В современном понима-

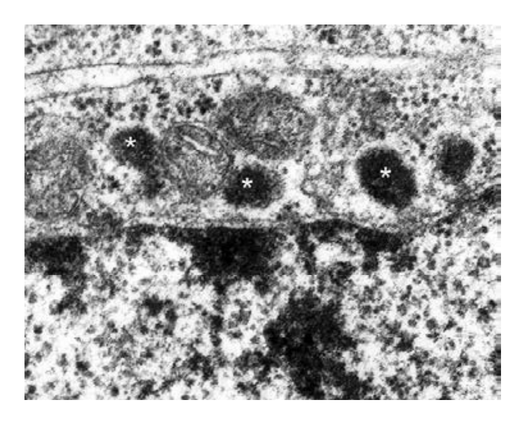


Рис. 67. Герминальные гранулы (отмечены звездочками), располагающиеся вблизи ядерной оболочки ооцита планарии *Dugesia tigrina* (по Isaeva et al., 2005).

нии «зародышевая плазма» содержит электронно-плотный, обогащенный РНК материал, структурированный в виде компактных герминальных гранул или более дисперсного «облачка» (nuage) как специфичного маркера клеток половой линии Metazoa.

Благодаря присутствию этого ультраструктурного маркера – «зародышевой (половой) плазмы», представленной гранулярным или фибриллярным материалом, не окруженным мембраной, клетки половой линии могут быть почти безошибочно идентифицированы и прослежены в ходе развития организма (Eddy, 1975; Mahowald, 2001; Matova, Cooley, 2001; Seydoux, Braun, 2006; Strome, Lehman, 2007; Frank et al., 2009; Isaeva, 2011; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013). Герминальные гранулы рассматриваются как ключевые органеллы клеток половой линии (Chuma et al., 2006; Seydoux, Braun, 2006; Lim, Kai, 2007; Strome, Lehman, 2007). Предполагается, что внегеномная информация, локализованная в таких органеллах, определяет поддержание стволовых клеток половой линии и возможность реализации программы гаметогенеза (Extavour, 2008), т.е. программу репродукции стволовых клеток при репрессии генов дифференцировки с возможностью переключения на программу мейоза и гаметогенеза.

Материал герминальных гранул, а также сложные структуры, включающие электронно-плотный материал и митохондрии в вителлогенных ооцитах, именовались по-разному (см. Eddy, 1975; Mahowald, 2001; Исаева, Реунов, 2001; Seydoux, Braun, 2006; Strome, Lehnam, 2007; Frank et al., 2009; Isaeva, 2011; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013), что внесло «терминологический хаос», затрудняющий сравнение этих структур у разных видов (Kloc et al., 2004). Структура электронно-плотного материала таких органелл сходная, но у разных животных и на разных стадиях жизненного цикла они могут быть представлены различным образом. В ходе оогенеза герминальные гранулы морфологически трансформируются, но не исчезают в клетках женской половой линии, например, полярные гранулы постепенно замещаются материалом nuage в ходе миграции полярных клеток дрозофилы (см. Mahowald, 2001). Непрерывность и преемственность наследуемого от материнского организма герминального

материала на протяжении всего жизненного цикла показана у *Drosophila, Xenopus, Caenorhabditis elegans* (см. Mahowald, 2001).

Присутствие герминальных (перинуклеарных) гранул – эволюционно консервативная черта половых клеток многоклеточных животных. Эти специфические органеллы были найдены более чем у 80 видов восьми типов животных (Eddy, 1975). К списку Эдди можно добавить, по крайней мере, еще один тип, Porifera. В оогониальных клетках и ооцитах нескольких видов губок неоднократно найдены и описаны электронно-плотные тела, морфологически подобные герминальным гранулам или материалу nuage, именовавшиеся ядерной экструзией или хромидиями (см. Исаева, Ахмадиева, 2011).

У некоторых размножающихся бесполым путем беспозвоночных животных стволовые клетки, способные дифференцироваться в половые и соматические, также могут быть идентифицированы по присутствию специфических электронно-плотных цитоплазматических структур, морфологически подобных или идентичных герминальным гранулам или материалу nuage клеток половой линии. «Зародышевая плазма», содержащая герминальные гранулы или nuage, оказывается ультраструктурным маркером и ключевой органеллой плюрипотентных гаметогенных клеток беспозвоночных с бесполым размножением (Mochizuki et al., 2001; Исаева и др., 2007, 2009, 2011; Frank et al., 2009; Isaeva, 2011; Srouji, Extavour, 2011; Исаева, Ахмадиева, 2011; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013). Помимо герминального материала, плюрипотентные стволовые клетки размножающихся бесполым путем беспозвоночных и клетки половой линии отличаются общими с клетками половой линии морфологическими чертами: высоким ядерно-цитоплазматическим отношением, большим округлым ядром с диффузным хроматином и заметным ядрышком, тонким ободком недифференцированной базофильной цитоплазмы (Shukalyuk, Isaeva, 2005; Исаева и др., 2007, 2009, 2011; Extavour, 2008; Rinkevich et al., 2009; Srouji, Extavour, 2011; Isaeva, 2011; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013).

Данные о структурной и молекулярной организации герминального материала в клетках различных таксонов многоклеточных животных весьма фрагментарны. До недавнего времени герминальные гранулы в стволовых клетках беспозвоночных были выявлены только в интерстициальных клетках гидры *Pelmatohydra robusta* и необластах плоских червей (Noda, Kanai, 1977; Shibata et al., 1999; Isaeva, 2011; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013). Число и размер таких гранул падает по мере дифференцировки стволовых клеток в другие клеточные типы (см. Noda, Kanai, 1977; Shibata et al., 1999; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013). Эти наблюдения привели к предположению о функции хроматоидных тел, связанной с поддержанием тоти/плюрипотентности (Shibata et al., 1999).

Электронно-плотные герминальные гранулы типичной морфологии, локализованные вблизи ядерной оболочки, были найдены в цитоплазме

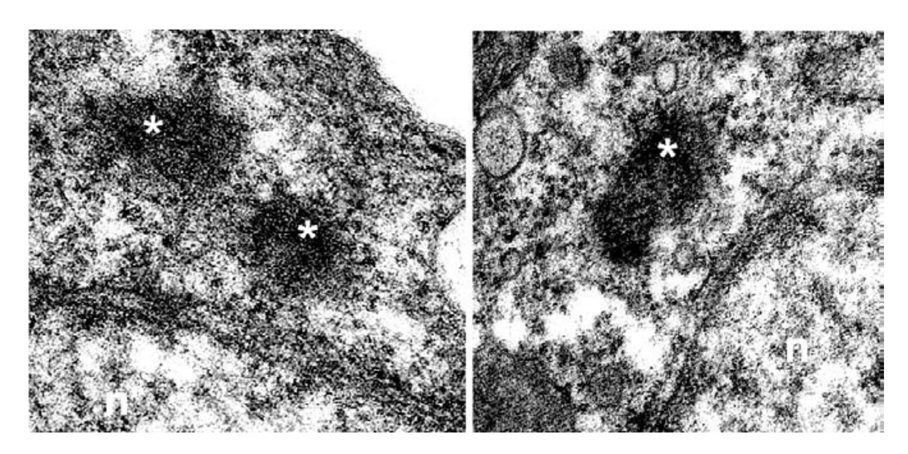


Рис. 68. Герминальные гранулы (отмечены звездочками), лежащие вблизи ядра (n) археоцитов губки *Oscarella malakhovi* (Исаева, Ахмадиева, 2011).

археоцитов губки *Oscarella malakhovi* (Исаева, Ахмадиева, 2011) (рис. 68).

Подобные гранулы не были ранее описаны у губок. Эти гранулы выявлены также в интерстициальных клетках колониальных гидроидов *Obelia longissima* и *Ectopleura crocea* (Исаева и др., 2011). Такие герминальне гранулы – общая черта интерстициальных клеток и ооцитов *O. longissima* и подобны по ультраструктуре «плотным телам» интерстициальных и половых клеток *Pelmatohydra robusta* (Noda, Kanai, 1977), а также ооцитов книдарий (Thomas, Edwards, 1991). Герминальные гранулы (обычно именуемые хроматоидными телами), окруженные митохондриями, найдены вблизи ядерной оболочки, часто в контакте с ядерными порами, в необластах и гониальных клетках планарии *Girardia tigrina* (Isaeva et al., 2005). У колониальной асцидии *Botryllus tuberatus* в цитоплазме некоторых стволовых клеток встречаются небольшие тельца (Ахмадиева и др., 2007), сходные с материалом nuage, нередко наблюдаемым в клетках позвоночных.

Таким образом, плюрипотентные гаметогенные стволовые клетки у изученных размножающихся бесполым путем представителей типов губок, книдарий, турбеллярий, членистоногих и хордовых характеризуются присутствием герминальных гранул. Герминальные гранулы (или более дисперсный материал nuage) может быть использован как ультраструктурный маркер и ключевая органелла плюрипотентных стволовых клеток беспозвоночных с бесполым размножением (Shibata et al., 1999; Mochizuki et al., 2001; Исаева и др., 2008, 2009, 2010; Frank et al., 2009; Исаева, Ахмадиева, 2011; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013).

Электронно-плотные гранулярные структуры наблюдали также в эмбриональных стволовых клетках мыши (Shukalyuk et al., 2011). Таким образом, герминальные гранулы найдены не только в клетках половой

линии, но и в потенциально гаметогенных плюрипотентных стволовых клетках размножающихся бесполым путем беспозвоночных (губок, гидроидов, турбеллярий, колониальных корнеголовых ракообразных, колониальных асцидий) и плюрипотентных ЭСК *in vitro*.

Молекулярные маркеры гаметогенных клеток

Герминальные гранулы клеток половой линии у всех исследованных представителей Metazoa содержат эволюционно консервативные молекулярные компоненты: белки, мРНК и некодирующие РНК (Matova, Cooley, 2001; Mochizuki et al., 2001; Extavour, Akam, 2003; Seydoux, Braun, 2006; Strome, Lehman, 2007; Extavour, 2008; Ewen-Campen et al. 2010; Srouji, Extavour, 2011; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013). Молекулярная сигнализация клеток половой линии включает набор эволюционно консервативные белков Vasa, Piwi/Aubergine, Nanos, Tudor, Pumilio, Staufen, гомологи которых идентифицированы у всех изученных Metazoa. Компоненты герминальных гранул обеспечивают локализацию мРНК и их защиту, регуляцию трансляции и ингибирование транскрипции в клетках половой линии (Extavour, Akam, 2003; Leatherman, Jongens, 2003; Kloc et al., 2004; Chuma et al., 2006; Seydoux, Braun, 2006; Strome, Lehman, 2007; Extavour, 2008; Ewen-Campen et al. 2010). Предполагается, что герминальные гранулы функционируют как специфический регуляторный цитоплазматический центр, поддерживающий тотипотентность клеток половой линии и предотвращающий экспрессию генов соматической дифференцировки (Leatherman, Jongens, 2003; Chuma et al 2006; Seydoux, Braun, 2006; Strome, Lehman, 2007; Cinalli et al., 2008; Extavour, 2008).

Составляющие основу программы спецификации клеток половой линии гены, такие как *vasa*, *piwi, tudor, nanos*, проявляют поразительный эволюционный консерватизм. Гены, родственные *vasa* и *pl10* (представителям семейства DEAD-box) и генам семейства *piwi/argonaute* (см. Shukalyuk et al., 2007; Funayama al., 2010; Shukalyuk et al., 2007; Shukalyuk, Isaeva, 2013), найдены у эукариотических организмов от дрожжей до растений и животных; их молекулярное и функциональное сходство объединяет эти царства. Продукты генов, родственных *vasa* и *piwi*, широко используются как маркеры клеток половой линии (Extavour, Akam, 2003; Rinkevich et al., 2009; Ewen-Camden et al., 2010; Gustafson, Wessel, 2010; Alié et al., 2011). Белок гена *vasa* дрозофилы или его гомологи (РНК-хеликаза) – основной детерминант судьбы клеток половой линии животных (Extavour, Akam, 2003; Seydoux, Braun, 2006; Cinalli et al., 2008; Ewen-Camden et al., 2010; Gustafson, Wessel, 2010; Srouji, Extavour, 2011; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013). Белки Piwi играют ключевую роль в поддержании клеток половой линии, сайленсинге транспозонов и мРНК. Столь важная функция этих белков опосредована их взаимодействиями

с некодирующими микроРНК, определяющими стабильность и трансляцию мРНК, а также структуру хроматина (Amrose, Chen 2007; Cinalli et al., 2008; Watanabe et al. 2009; Ewen-Camden et al., 2010; Gustafson, Wessel, 2010; Funayama et al., 2010; Sroji, Extavour, 2011).

Таким образом, глобальная транскрипционная репрессия и трансляционный контроль как защита от соматической дифференцировки – ключевые черты стволовых клеток половой линии (Leatherman, Jongens, 2003; Seydoux, Braun, 2006; Cinalli et al., 2008; Ewen-Camden et al., 2010). В клетках половой линии транскрипционная активность не выявляется на протяжении эмбриогенеза, митотическая активность ингибируется до начала гаметогенеза (Extavour, 2007, 2008).

У животных с половым размножением экспрессия генов *vasa*, *piwi* и других молекулярных маркеров ограничена клетками половой линии от раннего эмбриогенеза до гаметогенеза (Mochizuki et al, 2001; Extavour, Akam 2003; Sunanaga et al., 2007). У животных с бесполым размножением плюрипотентные стволовые клетки экспрессируют эволюционно консервативные генные маркеры гаметогенных клеток, включающие белковые продукты генов, родственных *vasa/pl10, piwi/argonaute, nanos, tudor*, в течение всей жизни организма (Extavour, 2008; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009; Ewen-Campen et al. 2010; Funayama et al., 2010; Gustafson, Wessel, 2010; Srouji, Extavour, 2011; Wu et al., 2011; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013).

У пресноводной губки *Ephydatia fluviatilis* (Porifera) была выявлена экспрессия ортологов гена *piwi* в плюрипотентных гаметогенных стволовых клетках: археоцитах и хоаноцитах (Funayama, 2008; Funayama et al., 2010). Предполагается, что и археоциты, и хоаноциты – компоненты системы стволовых клеток демоспонгий (Funayama et al., 2010).

Среди представителей Cnidaria ортологи Piwi/Argonaute и Pumilio найдены у гидроида *Hydra magnipapillata* и кораллового полипа *Nematostella vectensis* (Watanabe et al., 2009). У гидроидного полипа *Hydra magnipapillata* интерстициальные клетки экспрессируют гены, родственные *vasa*, *PL10* и *nanos* (Mochizuki et al., 2001, 2001). Необласты планарий (Plathyhelminthes), способные дифференцироваться в половые и соматические клетки всех типов, экспрессируют гомологи генов *vasa*, *piwi*, *nanos*, *pumilio, bruno, tudor* (см. Isaeva et al., 2005; Shukalyuk, Isaeva, 2013). Плюрипотентные стволовые клетки колониальных паразитических корнеголовых (Arthropoda) служат предшественниками и соматических, и половых клеток, обеспечивая реализацию репродуктивной стратегии с чередованием полового и бесполого размножения. Наиболее ранние зачатки бластозооидов возникают на эндопаразитической стадии жизненного цикла как почки столона. В ранней почке заключена группа недифференцированных стволовых клеток, из которых развивается бластозооид, позже стволовые клетки мигрируют в развивающийся яичник,

становясь оогониями (Isaeva et al., 2004; Shulalyuk et al., 2005; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013). Консервативные сайты генов, родственных *vasa* и *pl10*, были найдены в ДНК *Polyascus polygenea* и *Clistosaccus paguri* (Shukalyuk et al., 2007). Селективная экспрессия РНК этих генов наблюдалась в плюрипотентных стволовых клетках, оогенных и сперматогенных клетках *P. polygenea* (Shukalyuk et al., 2007).

Среди колониальных асцидий (Chordata) распространено бесполое размножение, в частности паллеальное и сосудистое почкование ботриллид; при сосудистом почковании бластозооид образуется гемобластами. Гемобласты – плюрипотентные стволовые клетки, которые дают начало дифференцированным клеткам крови, тканям бластозооида при бесполом размножении и половым клеткам (Rinkevich, 2009; Rinkevich et al., 2009; Isaeva et al., 2011). Экспрессия родственного *vasa* гена первичными половыми клетками, морфологически неотличимыми от гемобластов, была показана у *Botryllus primigenus* (Sunanaga et al., 2007). Экспрессия гомолога *vasa* у одиночной асцидии *Boltenia villosa* была обнаружена только в половых клетках, тогда как у колониальной *Botrylloides violaceus* – в половых клетках, некоторых циркулирующих клетках крови, дифференцирующихся почках и зооидах (Brown, Swalla, 2007). Экспрессия мРНК гена *vasa* была выявлена также в клетках половой линии и агрегатах гемобластов колониальных асцидий *Botryllus primigenus* и *Polyandrocarpa misakiensis* (Gustafson,Wessel, 2010). У колониальной асцидии *Botryllus schlosseri* мРНК и белковые продукты ортологов генов *vasa*, *pl10*, *piwi* и *Oct4* экспрессировались не только в клетках половой линии, но и в циркулирующих гемобластах (Rosner et al., 2009). Эти данные свидетельствуют о том, что клетки половой линии у почкующихся асцидий возникают из недифференцированных гемобластов (Sunanaga et al., 2007; Rosner et al., 2009).

Таким образом, плюрипотентные стволовые клетки беспозвоночных с бесполым размножением проявляют экспрессию генов, родственных *vasa*, *piwi* и некоторым другим, подобно клеткам половой линии (Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009; Srouji, Extavour, 2011; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013). Продукты этих генов, вовлеченные в детерминацию половых клеток и поддержание плюри/тотипотентности клеток, могут быть маркерами плюрипотентных стволовых клеток (Shibata et al., 1999; Mochizuki et al., 2001; Shukalyuk et al., 2007, 2011; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009; Srouji, Extavour, 2011).

У потенциально гаметогенных недифференцированных эмбриональных стволовых клеток и индуцированных плюрипотентных стволовых клеток мыши найдена экспрессия белков Miwi/Piwi, Nanos, Nanog и Oct4 (Shukalyuk, 2009; Shukalyuk et al., 2011; Shukalyuk, Isaeva, 2012). Ген *Oct4*, который кодирует фактор транскрипции, вовлеченный в поддержание плюрипотентного гаметогенного фенотипа эмбриональных стволовых

клеток млекопитающих, вероятно, уникален для вторичноротых (см. Srouji, Extavour, 2011).

У многих беспозвоночных экспрессия *vasa* и *piwi* не ограничена половой линией клеток (Alié et al., 2011). Поддержание морфофункциональной организации стволовых клеток вовлекает эволюционно консервативные механизмы, общие для всех исследованных многоклеточных животных. Структура и функции регуляторной транскрипционной сети плюрипотентных гаметогенных стволовых клеток консервативна в эволюции Metazoa (Watanabe et al., 2009). Таким образом, эмбриональные стволовые, половые и плюрипотентные стволовые клетки различных многоклеточных объединяет экспрессия генов, родственных *piwi* и некоторым другим генам, играющим ключевую роль в поддержании «стволовости» и гаметогенного потенциала.

Гаметогенные и соматические стволовые клетки: сходство и отличия

Стволовые клетки размножающихся бесполым путем животных, как и все стволовые клетки, включая клетки половой линии, характеризуются способностью к самообновлению. Для них характерны такие маркеры клеточной репродукции, как положительная реакция на ядерный антиген пролиферирующих клеток (PCNA), теломеразная активность, включение бромдезоксиуридина (см. Исаева и др., 2009; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013). Например, стволовые клетки *Peltogasterella gracilis* выделяются экспрессией PCNA; на эндопаразитической стадии стволовые клетки были единственным клеточным типом с PCNA-положительной реакцией (Shukalyuk et al., 2005).

Стволовые клетки *P. gracilis* проявляют высокую селективную активность щелочной фосфатазы, известного маркера первичных половых и эмбриональных стволовых клеток млекопитающих и других позвоночных (Исаева и др., 2003; Shukalyuk et al., 2005; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013). Высокая активность щелочной фосфатазы отличает также интерстициальные клетки гидроида *Obelia longissima* (Исаева и др., 2011) и колониальной асцидии *Botryllus tuberatus* (Ахмадиева и др., 2007).

Плюрипотентные стволовые клетки бесполо размножающихся беспозвоночных подобны первичным половым клеткам также своей способностью к амебоидной подвижности и обширным миграциям в организме, направленным соответственно к местам бесполого размножения, к раневой поверхности, возникшей в результате деления, или к гонадам (Исаева и др., 2007, 2009). Популяция плюрипотентных стволовых клеток, характеризующихся, подобно первичным половым клеткам, амебоидной подвижностью, представлена диаспорой рассеянных в организме

клеток, не принадлежащих ни одному зародышевому листку или дифференцированной ткани.

Таким образом, гаметогенные плюрипотентные стволовые клетки у животных с бесполым размножением и клетки половой линии всех многоклеточных животных несут общие черты морфофункциональной организации и, как правило, вполне отчетливо отличимы от соматических клеток. Однако в некоторых соматических клетках эукариотических организмов, включая клетки млекопитающих, присутствуют так называемые Р-тельца (processing bodies), РНК (РНП) гранулы, транспортные гранулы, стресс гранулы, нейрональные гранулы, иногда рассматриваемые как структурные и функциональные аналоги герминальных гранул. Такого рода гранулы играют основную роль в локализации, стабилизации, деградации и регуляции трансляции РНК, а также сайленсинге генов (см. Shukalyuk, Isaeva 2012, 2013). Эти данные свидетельствуют о родственной, частично перекрывающейся функции гранул соматических клеток и герминальных гранул клеток половой линии.

Представление об эволюционной и генетической общности стволовых клеток животных с бесполым размножением, клеток половой линии и эмбриональных стволовых клеток возвращает нас к концепции А. Вейсмана (Weismann, 1883), который писал о неотличимости гаметогенных клеток и недифференцированных клеток, сохраняющих «половую плазму». Неотличимость и предполагаемое эволюционное и онтогенетическое родство плюрипотентных стволовых клеток с клетками половой линии отмечалось неоднократно (Weissman, 2000; Extavour, Akam, 2003; Extavour, 2008; Rinkevich, 2009; Strouji, Extavour, 2011).

Морфофункциональная организация клеток половой линии и плюри/тотипотентных стволовых клеток связана с активностью родственных, эволюционно консервативных генов (Extavour, Akam, 2003; Sköld et al., 2009; Strouji, Extavour, 2011; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013). Плюрипотентные стволовые клетки животных с бесполым размножением, названные «первичными стволовыми клетками» (Sköld et al., 2009), служат предшественниками первичных половых и соматических клеток (Blackstone, Jasker, 2003; Sköld et al., 2009). Потенциал клеток половой линии шире гаметогенной унипотентности и включает возможность соматической дифференцировки (Extavour, 2008; Strouji, Extavour, 2011), т.е. плюрипотентность.

Стволовые клетки свободно живущих беспозвоночных с бесполым размножением используют родительский организм как питательную среду. Половые и плюрипотентные стволовые клетки – «привилегированные», «хищные» клетки, склонные к «паразитизму», как это показано на колониальных асцидиях (Buss, 1999; Pancer et al., 1995; Rinkevich, 2009). Стволовые клетки животных с бесполым размножением, как и клетки половой линии, вероятно, происходят от ранних тотипотентных бласто-

меров или их производных, сохранивших плюри/тотипотентность. Имеющиеся данные указывают на эволюционный консерватизм и сходство исследованных морфофунциональных свойств стволовых клеток животных с бесполым размножением (от губок до хордовых), клеток половой линии и эмбриональных стволовых клеток. Предполагается, что эволюционно и онтогенетически родственные клетки зародышей ранних стадий, первичные стволовые и первичные половые клетки принадлежат к клеточным популяциям, сохраняющим широкий или неограниченный морфогенетический потенциал; они способны к реализации всей программы развития (Исаева и др., 2008, 2009).

Таким образом, данные литературы и наши исследования ведут к предположению о наличии эволюционно консервативных, общих для всех исследованных представителей многоклеточных животных, от губок до хордовых, клеточных, субклеточных и молекулярных основ плюрипотентности и «стволовости» гаметогенных стволовых и половых клеток.

Эволюционные преобразования клеточных ресурсов развития

В ходе развития неизбежен аллометрический рост, обусловленный интенсивностью и длительностью клеточного размножения, сопряженный с гетерохрониями и гетеротопиями пролиферации клеток. Аллометрический рост, гетерохронии и гетеротопии экспрессии генов, регулирующих клеточную репродукцию, вероятно, играли существенную роль в эволюционных преобразованиях клеточных ресурсов развития (Isaeva, 2015, 2016).

Различие клеточных ресурсов роста и развития Protostomia (Lophotrochozoa и Ecdysozoa) и Deuterostomia наблюдается уже в конце дробления зиготы, к началу гаструляции. На существенное различие числа эмбриональных клеток у первичноротых и вторичноротых животных при переходе к гаструляции обратил внимание П.П. Иванов (1937). По его оценке, гаструляция зародышей Protostomia обычно начинается на стадии 128 бластомеров, тогда как среди Deuterostomia у иглокожих переход к гаструляции происходит приблизительно на стадии 1150 клеток, а у лягушки – около 6000 клеток (Иванов, 1937). У зародышей позвоночных наблюдается увеличение числа делений дробления и существенное возрастание числа эмбриональных клеток к стадии гаструляции по сравнению с беспозвоночными представителями Deuterostomia и Chordata (Berrill; 1961; Ruppert, 1997) (таблица 12).

Сравнение числа делений дробления и числа клеток зародыша к началу гаструляции в пределах Chordata показывает, что гаструляция аппендикулярии *Oikopleura* и асцидии *Styela* начинается раньше, чем у ланцетника *Amphioxus* (*Branchiostoma*). У миноги *Petromyzon* и амфибии *Triturus* число клеток зародыша к началу гаструляции многократно воз-

Таблица 12.
Число клеток при гаструляции представителей хордовых (по Ruppert, 1997)

Животные	Число делений	Число клеток
Oikopleura	5–6	38
Styela	6–7	76
Amphioxus	9–10	780
Petromyzon	11	2200
Triturus	14	1600

растает по сравнению с представителями оболочников (Berrill; 1961; Ruppert, 1997). Таким образом, среди хордовых начало гаструляции замедлено, отложено у представителей позвоночных, что представляет собой проявление неотении (Ruppert, 1997).

Появление у животных с личиночным развитием резервных, в сущности, стволовых клеток на основе преобразования генетических регуляторных систем оценивается как важнейшее эволюционное новшество, объясняющее возникновение новых планов строения, новых типов животных при "кембрийском взрыве" и появление высших Metazoa (Davidson et al., 1995; Davidson, 2006; Hall, 1998; Gould, 2002). Как уже было отмечено выше, все стволовые клетки, включая гаметогенные, у всех Metazoa – резервные клетки, «отложенные», запасенные для будущего развития и репаративных процессов (Isaeva, 2011, 2015, 2016).

Регулятивное развитие, типичное для хордовых и большинства Deuterostomia, коррелирует с «избыточностью» клеточного материала, возможностью селекции на клеточном уровне в пределах организма (что показано для нейробластов и иммунокомпетентных клеток) и относительно высоким уровнем апоптоза (см. Isaeva, 2015, 2016). У многоклеточных с большими размерами и обилием тканей значительно больше возможностей «разнесения» экспрессии генов генов-паралогов во времени и пространстве (Колчанов и др., 2004; Гунбин и др., 2008; Колчанов, Суслов, 2006) включая приобетение новых функций генами дополнительных *Hox*-кластеров.

У позвоночных важный онтогенетический и эволюционный резерв морфогенеза составляют плюрипотентные стволовые клетки нервного гребня, а также стволовые клетки эктодермальных плакод (рис. 69).

Клетки нервной трубки, нервного гребня и эктодермальных плакод позвоночных осуществляют «второй раунд развития» (Kirschner, Gerhart, 2005). Б. Холл (Hall, 1998, 2000, 2008) постулировал, что клеточный материал нервного гребня представляет собой четвертый зародышевый листок, и обладающие им позвоночные – четырехслойные животные. Эпителиальные зародышевые листки характерны для позвоночных животных, у которых они и были впервые обнаружены, тогда как у малоклеточных представителей большинства беспозвоночных при гаструляции наблюдается погружение немногочисленных клеток, не объединен-



Рис. 69. Схема нейруляции и миграции клеток нервного гребня позвоночных (по Cabej, 2012, изменено).

ных в эпителиальный пласт. Эктодерма и энтодерма рассматриваются как первичные зародышевые листки, которые первыми появляются и в эволюции, и в развитии, мезодерма – как вторичный зародышевый листок, возникающий после индуктивных взаимодействий экто- и энтодермы (см. Hall, 1998, 2008; Minelli, 2003). Холл (Hall, 1998, 2000, 2008) пересматривает теорию зародышевых листков, обоснованно полагая, что зародышевые листки подвержены интенсивным эволюционным изменениям. Согласно Холлу, нервный гребень, подобно мезодерме, представляет собой вторичный зародышевый листок (Hall, 1998).

У хордовых центральная нервная система содержит внутреннюю полость, тогда как представители всех других типов животных обладают головными ганглиями, лишенными полости; единственное исключение – головоногие моллюски с вторично возникающей в процессе развития полостью внутри крупного надглоточного ганглия (см. Савельев, 2005). Появление нейродермы с последующим формированием полой нервной трубки и нервного гребня – ароморфная эволюционная инновация хордовых, обеспечившая возникновение небывалого нейрогенного клеточного ресурса – избытка нейробластов с многократным увеличением массы мозга, возможностью отбора на клеточном уровне и быстрой эволюцией мозга. У тритона нейральная пластинка составляет 50% эктодермы (Гилберт, 2010). У зародыша человека преобладание относительной массы нейрогенного клеточного материала на стадии нейрулы поразительно: при простом визуальном сравнении нейрогенной массы клеток с размерами сомитов (см. Shiota, 2008; Гилберт, 2010) очевидны гетерохрония, ускоренный аллометрический рост и пераморфоз (гиперморфоз) нервных валиков и нервной трубки (рис. 70).

Известные примеры гетерохроний включают неотенические признаки млекопитающих и человека, в том числе аллометрическое увеличение объема мозга. У обезьян и человека плод рождается с большим мозгом и маленькой массой тела, затем масса тела растет намного быстрее, чем мозг (Савельев, 2005). Непропорциональная экспансия кортикальной поверхности головного мозга человека ведет к появлению складок-борозд; в результате прохождения дополнительных циклов клеточной

репродукции происходит 1000-кратное возрастание площади кортикальной поверхности мозга человека по сравнению с мышью (Chenn, 2002). Появление огромного нейрогенного клеточного материала привело к образованию неокортекса млекопитающих на базе вомероназальной системы рептилий, развитию памяти и мышления (Савельев, 2005, 2010).

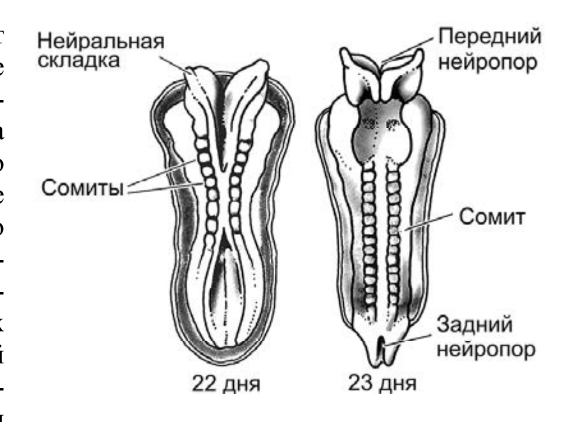


Рис. 70. Нейрула человека 22 и 23 дней развития (по Shiota, 2008; Гилберт, 2010).

Роль дополнительных циклов клеточной репродукции в появлении качественно новых морфологических структур относительно мало изучена. В экспериментах с трансгенными мышами, экспрессирующими устойчивую форму β-катенина, важного компонента сигнальной системы Wnt, получено двукратное (по сравнению с диким типом) возрастание пропорции трансгенных нейробластов, вновь вступающих в клеточный цикл после деления, что привело к увеличению мозга трансгенных мышей и появлению его складчатой поверхности – тогда как у дикого типа поверхность мозга гладкая (Chenn, 2002). Как известно, прохождение клеточного цикла контролируется регуляторными комплексами циклинов. На основе анализа эволюционных изменений аминокислотных последовательностей циклинов Metazoa показано, что у позвоночных атипичные замены аминокислот коррелируют с такими ароморфными преобразованиями, как возникновение тетрапод, появление яйцекладущих амниот, общего предка млекопитающих, плацентарного живорождения (Gunbin et al., 2011). Обнаружено также, что в установление синаптических связей и формирование памяти вовлечены микроРНК; идентифицированы как консервативные, так и новые, видоспецифичные гены микроРНК мозга человека (см. Berezikov et al., 2006; Li et al., 2012).

Таким образом, возрастание резервов стволовых клеток способствовало расширению эволюционного потенциала и ароморфным преобразованиям, что наиболее выражено у хордовых животных, особенно высших представителей позвоночных. Нейруляция хордовых с появлением нейральной пластинки как четвертого зародышевого листка (нейродермы) – ароморфная эволюционная инновация, обеспечившая возникновение огромного клеточного ресурса нейрогенеза. Эволюционное возникновение новых популяций стволовых клеток как локальных вставок

пролиферирующих групп недифференцированных клеток на разных стадиях онтогенеза, вероятно, вовлекает гетерохронные и гетеротопные преобразования и аллометрию с кооптацией экспрессии генов, контролирующих клеточную репродукцию и дифференцировку.

Сходство и различия системы стволовых клеток животных и растений

В онтогенезе растений наблюдаются две различные фазы роста и развития: эмбриогенез, создающий системы стволовых клеток как часть организации многоклеточного растения, и постэмбриональное развитие, когда самоподдерживающиеся системы стволовых клеток продуцируют новые органы и структуры (Jürgens, 2003; Singer, 2010). Все растения обладают, по крайней мере, одной формой апикальной меристемы, состоящей из клеток, функционально аналогичных стволовым клеткам многоклеточных животных, т.е. способных делиться и генерировать специализированные ткани. У сосудистых растений существуют два типа апикальной меристемы, побега и корня (см. Graham et al., 2000; Jürgens, 2003; Taiz, Zeiger, 2003; Lohman, 2008; Singer, 2010). Возникновение и развитие апикальных меристем в эмбриогенезе цветковых растений (на примере *Arabidopsis*), от восьмиклеточной стадии до возникновения проростка, схематически представлено на рис. 71.

Апикальные меристемы побега и корня, локализованные на противоположных концах по апикально-базальной оси проростка, создают практически весь организм взрослого растения (Lohman, 2008) (рис. 72).

Сопоставление соотношений планов строения, с одной стороны, проростка и взрослого растения (Lohman, 2008) и, с другой стороны, личинки полихеты и взрослого червя (Bakalenko et al., 2013) (рис. 64) позволяет наглядно представить вклад систем стволовых клеток в рост и развитие дефинитивных организмов.

Отмечено и поразительное сходство, и некоторые различия стволовых клеток растений и животных (Batygina, 1991, 2010, 2011; Lohman, 2008; Sablowski, 2010; Исаева, Батыгина, 2010; Альберт, Ежова, 2013; Батыгина, Исаева, 2016). Стволовые клетки растений (Verdeil et al., 2007; Lohman, 2008; Sablowski, 2010) и животных характеризуются способностью к самообновлению путем митотической репродукции, высоким ядерно-цитоплазматическим отношением и преобладанием эухроматина в ядре.

Фундаментальным отличием растений от животных была признана их способность к поддержанию тоти/плюрипотентных стволовых клеток в течение всей жизни (Verdeil et al., 2007; Lohman, 2008), т.е. присутствие плюри- или тотипотентных клеток во взрослых тканях растений (Альберт, Ежова, 2013). Действительно, репродуктивные стволовые клет-

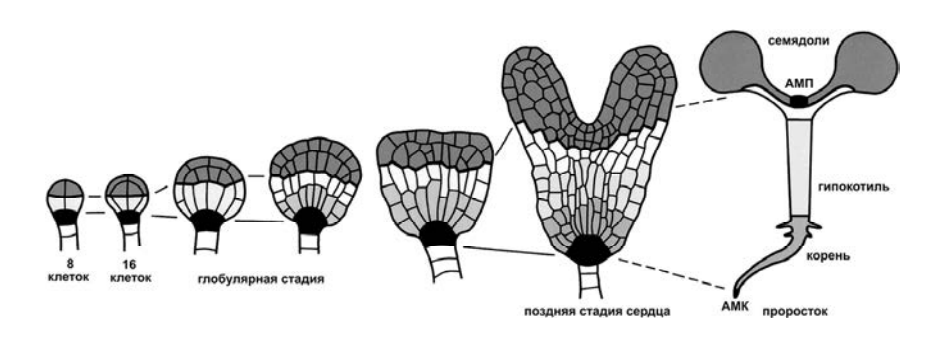


Рис. 71. Развитие апикальных меристем побега (АМП) и корня (АМК) в ходе эмбриогенеза (по Taiz, Zeiger, 2003).

ки гаметофита растений неоднократно возникают в течение жизни организма из стволовых клеток апикальной меристемы побега, т.е. наблюдается поздняя и неоднократная дивергенция герминальной и соматической линий клеток (Reyes et al., 2006; Verdeil et al., 2007; Lohman, 2008; Graaff et al., 2009; Batygina, 2010; Singer 2010). Однако однократное обособление линии тотипотентных половых клеток в эмбриогенезе характерно для животных с половым размножением, тогда как у беспозвоночных животных с бесполым размножением тоти/плюрипотентные стволовые клетки, обеспечивающие и половое размножение, и бластогенез, поддерживаются в течение всей жизни организма или колонии.

Дифференцированные клетки растений, по-видимому, сохраняют способность дедифференцироваться и становиться тотипотентными эмбриогенными стволовыми клетками (Батыгина, Рудский, 2006; Verdeil et al., 2007; Lohman, 2008; Batygina, 2010; Альберт, Ежова, 2013). Способность к дедифференцировке с преобразованием в тоти/плюрипотентную клетку, как правило, отсутствует у дифференцированных клеток животных, хотя животным с бесполым размножением, включая колониальных асцидий, принад-

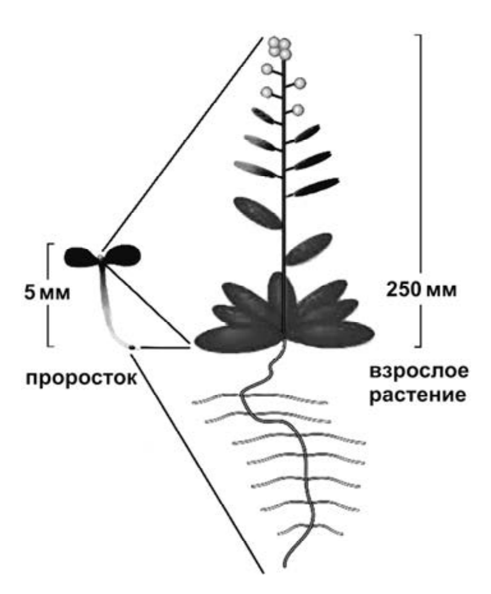


Рис. 72. Соотношение плана строения проростка и взрослого растения *Arabidopsis* (по Lohman, 2008).

лежащих к типу хордовых, свойственна высокая пластичность судьбы клеток, сопоставимая с наблюдаемой у растений (Rinkevich et al., 2009; Shukalyuk, Isaeva, 2012).

Новое растение может развиться из одной тотипотентной клетки (Батыгина, Рудский, 2006; Batygina, 1991, 2010; Verdeil et al., 2007; Lohman, 2008; Sablowski, 2010), которая в таком случае оказывается функционально подобной зиготе. У животных только зигота и бластомеры раннего зародыша (и лишь регулятивного типа развития) могут обеспечить возникновение целого организма из одной клетки в эксперименте или при естественной полиэмбрионии. Полиэмбриония как развитие целого зародыша из одной клетки эмбриона, т.е. бесполое размножение на ранней эмбриональной стадии, известна у представителей различных таксонов растений (Батыгина, Виноградова, 2007; Batygina, 2010) и животных (см. главу 10).

В отличие от стволовых клеток животных, способных к амебоидной подвижности и обширным миграциям, стволовые клетки растений с ригидной целлюлозной стенкой не способны активно мигрировать внутри организма и лишь пассивно перемещаются вместе с тканью при ее экспансии в результате пролиферации (Lohman, 2008; Sablowski, 2010).

Отличительной особенностью растений признано также наличие генетических систем, которые могут полностью прекращать существование пула стволовых клеток, в качестве примера которых рассматриваются стволовые клетки флоральной меристемы (Альберт, Ежова, 2013). Однако и гаметогенные стволовые клетки животных характеризуются экспрессией определенного набора ключевых генов, контролирующих программу гаметогенеза, и многие системы стволовых клеток, как, например, гаметогенные и нейрогенные, прекращают свое существование в ходе онтогенеза.

И у животных, и у растений судьба клеток определяется белковыми факторами транскрипции, играющими основную роль в контроле плана строения развивающегося организма. Содержащие гомеодомен транскрипционные факторы регулируют формообразование у растений, подобно *Hox*-генам животных. Известно, что, судьба стволовых клеток меристем растений, как и переключение программы при переходе от вегетативного развития к цветению контролируется генами, кодирующими факторы транскрипции классов WOX, KNOX и MADS (см. Meyerowitz, 2002; Lohman, 2008; Park, Harada, 2008; Graaff et al., 2009; Singer, 2010; Альберт, Ежова, 2013).

Таким образом, сходство растений и животных включает ведущую роль транскрипционных факторов в регуляции морфогенеза, возможность сочетания полового и бесполого размножения, клеточной основой которого служат тотипотентные или плюрипотентные стволовые клетки. Сход-

ство растений и животных включает также пластичность развития и судьбы стволовых клеток, обладающих эволюционно консервативными чертами морфофункциональной организации. Различия проявляются в способности к активной амебоидной подвижности стволовых клеток только у животных, а возможности развития нового клонального организма из одной соматической клетки только у растений.

Те или иные системы стволовых клеток обеспечивают индивидуальное развитие, размножение, выживание, клеточный и тканевой гомеостаз всех многоклеточных организмов (см. Isaeva, 2011, 2015, 2016). «Стволовость» включает поддержание недифференцированного состояния клеток, способности к самообновлению путем митотического деления и «отложенную» способность к цитодифференцировке. Сравнение развития растений и животных дает возможность понять фундаментальные механизмы процессов онтогеннеза.

Глава 10. РАЗНООБРАЗИЕ, ПЛАСТИЧНОСТЬ И ЦЕЛОСТНОСТЬ ОНТОГЕНЕЗА

Разнообразие жизненных циклов Metazoa

Жизненный цикл определяется как совокупность характерных для данного вида последовательно сменяющихся стадий; у животных в простейшем случае это развитие от стадии зиготы до половозрелого индивида; более сложные циклы включают несколько разнородных поколений (Иванова-Казас, 1995; Nielsen, 2012). Эволюция билатеральных животных и их жизненных циклов связана с возникновением новых генных регуляторных систем, новых программ развития (Davidson, 2006), увеличением числа стадий онтогенеза и усложнением каждой из них (Шмальгаузен, 1938, 1983).

Существование сложных жизненных циклов у животных обусловлено наличием, наряду с типичным половым размножением, партеногенеза как редуцированной половой репродукции или бесполого размножения. Чередование нормального полового поколения и партеногенетического называется гетерогонией, а чередование полового и бесполого поколений – метагенезом (Иванова-Казас, 1995). На примере сцифомедузы *Aurelia aurita* схематически представлены стадии жизненного цикла, включающего половое размножение с личиночной стадией (планулой), метаморфозом и бесполым размножением в виде стробиляции (рис. 73).

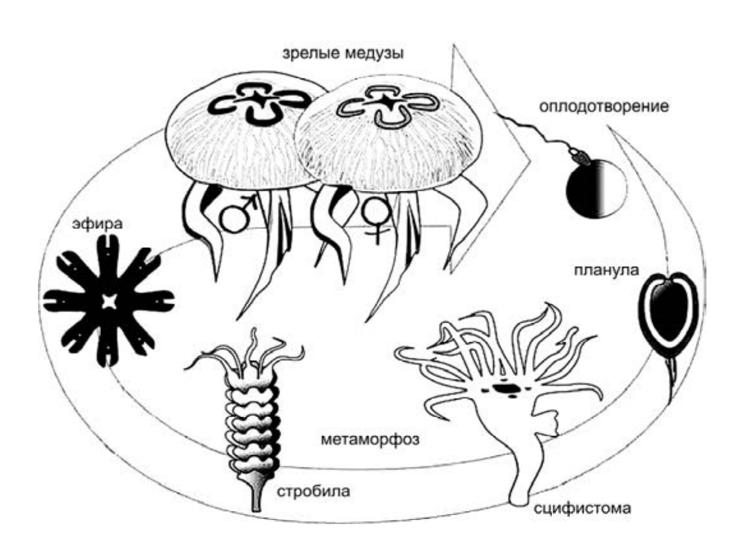


Рис. 73. Жизненный цикл *Aurelia aurita* (Technau et al., 2015; изменено).

В жизненном цикле колониальных животных одно поколение оозооида, развившегося из яйца, чередуется с множеством поколений бластозооидов; соответственно происходит чередование морфогенетических процессов – эмбриогенеза и бластогенеза (Иванова-Казас, 1996). Прохождение нескольких стадий развития (например, личинки и имаго) с различной экологией, поведением, питанием, морфологией и физиологией, а также включение агамной репродукции с чередованием полового и бесполого поколений усложняет жизненный цикл животных.

Чередование поколений связано с переключением программ развития. Агамное размножение многоклеточных животных весьма вариабильно, включая полиэмбрионию и разнообразные типы почкования и деления организма. При агамной репродукции животных развитие целого организма осуществляется группой подвижных плюрипотентных стволовых клеток, формирующих организм бластозооида.

Партеногенез

Партеногенез у животных – вторично упрощенный вид полового размножения, при котором новые индивиды развиваются из неоплодотворенных женских половых клеток. Партеногенез возникает в результате выпадения процесса оплодотворения и участия спермия. В простейшем случае из заключительной стадии оогенеза выпадает одно (или даже два) деления созревания, и так называемые партеногенетические яйца, в сущности, являются диплоидными незрелыми ооцитами (см. Иванова-Казас, 1995). Если исходной стадией развития служит гаплоидная яйцеклетка, из нее развивается гаплоидный организм. Это наблюдается, например, при факультативном партеногенезе пчел, муравьев и некоторых других перепончатокрылых, у которых из оплодотворенных яиц развиваются самки, а из неоплодотворенных – самцы. Партеногенез часто сочетается с прогенезом – тенденцией к размножению на более ранней стадии развития, оказываясь не только упрощенным, но и ускоренным вариантом размножения, средством эффективного использования благоприятных жизненных условий для увеличения численности (Иванова-Казас, 1995).

Партеногенез обнаружен у представителей книдарий, трематод, коловраток, ракообразных, моллюсков, насекомых, рыб, рептилий. К примеру, у *Daphnia magna* (Branchiopoda) описана смена полового и партеногенетического поколений в зависимости от условий окружающей среды. Этот вид дафнии использует две разные репродуктивные стратегии: при нормальных условиях обычно осуществляется партеногенетическое развитие самок; при стрессовых условиях среды партеногенетические самки продуцируют самцов и самок, которые дают оплодотворенные покоящиеся яйца; после диапаузы возобновляется партеногенетическая репродукция самок (Wolff, Gerberding, 2015).

Среди насекомых гетерогония представлена у тлей и двукрылых сем. Cecidomyidae, у которых наблюдается педогенез – партеногенетическое размножение на незрелых стадиях развития. Педогенетические личинки *Miastor* и *Heteropeza* имеют половую систему упрощенного строения; ооциты приступают к дроблению после одного деления созревания. Партеногенетические яйца почти не содержат желтка, и развивающиеся в гемоцеле зародыши извлекают питательные вещества из тела материнской личинки, которая гибнет от истощения, не доходя до окукливания. После этого дочерние личинки повторяют тот же цикл, но некоторые из них проходят нормальное развитие и превращаются во взрослых насекомых обоего пола. Появление личинок, претерпевающих нормальный онтогенез, обусловлено ухудшением условий питания (см. Иванова-Казас, 1995). Таким образом, основным внешним фактором, контролирующим у представителей Cecidomyidae переключение программы нормального развития на партеногенетическое, по-видимому, является количество и качество пищи.

Сложный жизненный цикл трематод, паразитических представителей плоских червей, например, печеночной двуустки *Fasciola hepatica*, включает три различных поколения. Деления созревания найдены не у всех трематод, и некоторые авторы считают размножение на стадиях спороцист и редий не партеногенезом, а полиэмбрионией, т.е. бесполым размножением. Возможно, упрощение процесса оогенеза у трематод привело к полному выпадению делений созревания, в результате чего генеративные клетки перестали отличаться от соматических (Иванова-Казас, 1995). Дополнительное усложнение жизненного цикла трематод может проявиться и в полифенизме – появлении двух морфологически и поведенчески различных каст одного из поколений (Hechinger et al., 2010).

Полиэмбриония

Полиэмбриония как развитие целого зародыша из одного бластомера ранних дробящихся зародышей, т.е. бесполое размножение на ранней эмбриональной стадии, известна у представителей различных животных, – по крайней мере, у представителей шести типов животного мира (Craig et al., 1997; Sköld et al., 2009) (рис. 74).

Для полиэмбрионии характерна многократная повторяемость стадии дробления. Полиэмбриония рассматривается как вставка бесполого размножения, встраивание бластогенеза в процесс раннего эмбриогенеза – архаллаксис, изменяющий процесс развития на стадии дробления и разрушающий относительный консерватизм эмбрионального развития.

Описана полиэмбриония некоторых паразитоидных представителей перепончатокрылых (Hymenoptera) и веерокрылых (Strepsiptera) насекомых (Johannsen, Butt, 1941; Hagan, 1951; Иванова-Казас, 1977, 1979) (рис. 74а). Показано, что при развитии вторичных эмбрионов в первич-

ном зародыше появляются центры размножения эмбриональных клеток, а третичные эмбрионы, возникающие путем почкования вторичных, соединены друг с другом первичным эмбриональным эпителием (Hagan, 1951), прослойками трофамниона (Иванова-Казас, 1979), т.е. возникает временная связность организации вторичных и третичных зародышей, временная колониальная система таких зародышей. Детально изучена полиэмбриония паразитоидных ос рода *Copidosoma*. У *Copidosoma floridanum* зигота сначала формирует морулу, состоящую приблизительно из 200 клеток; первичная морула путем повторного разделения кластеров митотически активных эмбриональных клеток дает более тысячи вторичных морул, формирующих полиморулу, или полигерм (Donnell et al., 2004; Corley et al., 2005). У *C. floridanum* вторичные зародыши развиваются либо в нормальных личинок и затем фертильных имаго, либо личинок-солдат с функцией защиты (см. ниже). В ходе развития на стадии 4 бластомеров у одного из них проявляется положительная реакция на белок Vasa (маркер половой линии клеток); эмбрионы с таким бластомером развиваются в фертильных взрослых насекомых. Каста солдат без половых клеток возникает из зародышей, лишенных Vasa-положительного бластомера, что подтверждает вовлеченность белка Vasa в детерминацию половой линии и касты у *C. floridanum* (Donnell et al., 2004; Corley et al., 2005).

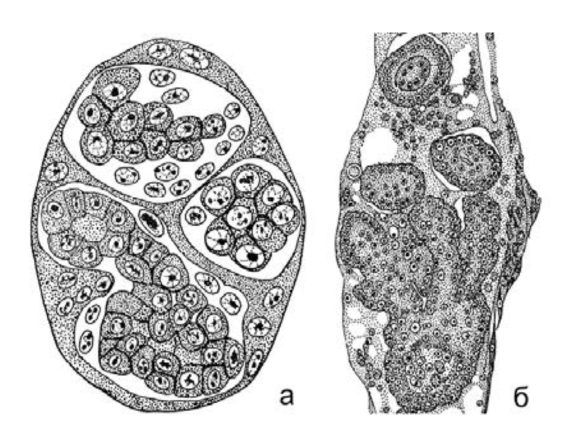


Рис. 74. Примеры полиэмбрионии: а – полиморула перепончатокрылого насекомого *Copidosoma truncatellum* (Hymenoptera) (по Johannsen, Butt, 1941); б – почкование зародыша мшанки *Crisia ramosa* (по Berrill, 1961).

Утверждение об отсутствии способности позвоночных к клонированию (Blackstone, Jasker, 2003) опровергается давно известными фактами факультативной полиэмбрионии среди млекопитающих, ставшей облигатной у некоторых видов броненосцев (Иванова-Казас, 1977). Например, у броненосца *Dasypus novemcinctus* на стадии четырех бластомеров происходит их разъединение, что ведет у этого вида к рождению постоянного числа детенышей– четырех однояйцевых близнецов (Prodöhl et al., 1996; Loughry et al., 1998) (рис. 75).

Как справедливо отмечает Иванова-Казас (1997, с. 38), рассмотренные «примеры находятся в противоречии с широко распространенным представлением об эволюционном консерватизме ранних стадий разви-



Рис. 75. Развитие однояйцевых близнецов у броненосца *Dasypus novemcinctus.*

тия». При полиэмбрионии стадия дробления становится более длительной, чем при обычном эмбриональном развитии, и тем самым преодолевается ограничение митотической активности клеток дробящегося зародыша (Donnell et al., 2004). Дополнительная пролиферация эмбриональных клеток, возможно, обусловлена кооптацией экспрессии консервативных генов, регулирующих клеточную пролиферацию (Corley et al., 2005). Условия развития во внутренней среде материнского организма или организма хозяина, по-видимому, стимулируют клеточную репродукцию. При полиэмбрионии паразитоидных насекомых создается подобие культуры тканей и клеток (Иванова-Казас, 1977).

Полифенизм

Пластичность развития включает и полифенизм, т.е. способность на основе одного генотипа генерировать альтернативными путями развития два или более фенотипов, различающихся морфологией, физиологией и поведением (Kirschner, Gerhart, 2005; Jenner, 2008; Hamilton, 2009). Существуют два рода полифенизма: последовательный и альтернативный (Kirschner, Gerhart, 2005).

Альтернативный полифенизм реализуется при одновременном развитии различных фенотипов, например, у социальных насекомых. Муравьи, осы, пчелы, термиты дают поразительные примеры различных взрослых фенотипов при едином генотипе. У социальных насекомых имеется несколько каст, из которых лишь немногие размножаются, тогда как другие выполняют в колонии альтруистические функции хелперов, не давая потомства. Исследованиями на муравьях, пчелах и термитах идентифицированы различия паттерна экспрессии генов, связанных с развитием крыльев и поведением, между разными кастами. Специфические ключевые факторы, получаемые в ходе развития, определяют появление дискретных фенотипических классов. Показана роль ювенильного гормона и экдизона в определении кастовой принадлежности; несколько генов с различной, специфичной для каст экспрессией, контролируют переключение программы развития у пчелы. У рабочих пчел яичник находится в подавленном состоянии, но при лишении царицы рабочие пчелы могут откладывать яйца (см. Evans, Wheeler, 2001; Donnell et al., 2004).



Рис. 76. Ларвальный полифенизм у *Copidosoma floridanum*: личнка-солдат (слева) и личинка, развивающаяся в имаго (по Donnell et al., 2004; изменено).

При рассмотренной выше полиэмбрионии у паразитоидной осы *Copidosoma floridanum* проявляется ларвальный полифенизм: развиваются две расы личинок, одна из которых представлена «солдатами» – незрелыми личинками с развитыми мандибулами, выполняющими альтруистическую функцию защиты против внутри- и межвидовых конкурентов и затем погибающими (Grbić et al., 1996; Donnell et al., 2004; Corley et al., 2005) (рис. 76).

У трематоды *Himasthla sp.* на одной из стадий развития в результате клонального размножения возникают колонии, включающие две морфологически и поведенчески различные касты – репродуктивная каста и солдаты (Hechinger et al., 2010). Солдаты не способны размножаться, имеют меньшие размеры тела по сравнению с особями репродуктиной касты, но относительно крупные ротовые части, и активно атакуют трематод других колоний, инфицировавших моллюска-хозяина, защищая генетически идентичных особей своей колонии (Hechinger et al., 2010).

Альтернативный полифенизм на клеточном уровне наблюдается у сперматозоидов некоторых животных, например, нематод (см. Yushin et al., 2007). При сперматогенезе у нематоды *Steinernema tami*, помимо способных к оплодотворению спермиев, возникают также гигантские подвижные клетки с альтруистической функцией транспорта спермиев для оплодотворения (Yushin et al., 2007) (рис. 77).

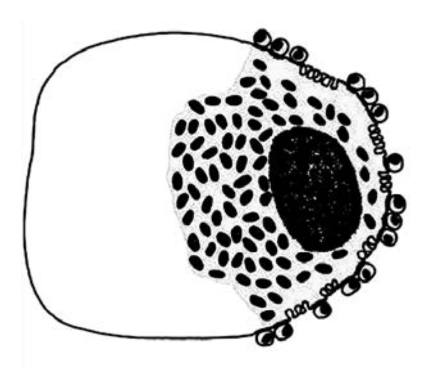


Рис. 77. Альтернативный полифенизм спермиев у нематоды *Steinernema tami*: гигантский подвижный сперматозоид-сперматофор, несущий прикрепленные к нему спермии, способные к оплодотворению (по Yushin et al., 2007).

Появление каст альтруистов, не способных дать потомство, возможно лишь при групповом отборе родственников, когда эволюция «видит» родственную группу как единицу от-

бора (Donnell et al., 2004; Kirschner, Gerhart, 2005). Наибольший вклад в теорию родственного отбора (kin selection) внес Хамильтон (Hamilton, 1964). Правило Хамильтона выражено в виде формулы RB > C, где R – степень генетического родства «жертвующей» и «принимающих жертву» особей, B – репродуктивный выигрыш адресата, C – репродуктивный ущерб «жертвователя». С учетом возможного выигрыша многих особей формула модифицируется введением числа этих особей: NRB > C, где N – число «принимающих жертву» (см. Марков, 2011б). Ген (аллель), способствующий альтруистическому поведению, будет распространяться в популяции, если в результате альтруистического поведения особи (особей) увеличивается число родственников, несущих этот ген.

Последовательный полифенизм включает две или большее число стадий развития, (личиночные и ювенильные формы, взрослое животное) и наблюдается у животных с личиночным развитием, когда взрослый организм и личинка различаются экологией, морфологией и физиологией. Например, развитие насекомых с полным превращением, включающее стадии личинки, куколки и имаго, рассматривается как последовательный полифенизм. У дрозофилы при переходе от личинки к куколке уровень экдизона, стероидного гормона, контролирующего наступление метаморфоза, изменяется более чем десятикратно (Evans, Wheeler, 2001). У многих ракообразных наблюдается последовательный полифенизм с бентосной формой взрослого организма и пелагической личиночной фазой, различающимися экологически, морфологически и физиологически. Наиболее примитивная и широко распространенная личинка ракообразных – науплиус, имеющий три пары головных придатков с первичной плавательной функцией, которые на более поздних стадиях приобретают сенсорные и связанные с питанием функции. Фенотипическая пластичность ларвальной морфологии и числа личиночных стадий от вылупления до метаморфоза весьма велика, варьируя внутри вида в зависимости от окружающих условий (Anger, 2006). Явление фенотипической пластичности документировано также на амфибиях.

Химеризм

Одним из видов вариабельности онтогенеза, который включает генетическую гетерогенность, является химеризм. Возникновение генетического химеризма возможно в естественных и экспериментальных условиях. Химеризм клеток организма встречается у многих животных, включая млекопитающих и человека (Rinkevich, 2009).

У некоторых колониальных животных химеризм может проявляться в появлении мультиклональной, мультихимерной организации (Rinkevich, 2009). Так, например, женская колония корнеголовых ракообразных включает десятки и даже сотни экстерн (редуцированных половозрелых бластозооидов), привлекающих личинок мужского пола. Каждая из этих

личинок-самцов редуцируется в процессе метаморфоза в рецептакуле экстерны до линии сперматогенных клеток; паразитический моноклональный колониальный женский организм может нести множество сперматогенных клонов, превращаясь в мультиклональную химеру (Исаева, Шукалюк, 2007; Исаева, 2010).

Эмбриогенез и бластогенез

Чередование полового и бесполого размножения и разнообразие агамной репродукции наиболее характерно для колониальных животных, как правило, ведущих прикрепленный образ жизни. В жизненном цикле колониальных животных поколение развившегося из зиготы оозооида чередуется с множеством поколений бластозооидов, возникающих бесполым путем (Иванова-Казас, 1995, 1996). Клональный морфогенез с образованием множества генетически идентичных индивидов или модулярных единиц колонии и последующей дифференциацией гамет из стволовых клеток часто именуется соматическим эмбриогенезом (Blackstone, Jasker, 2003; Rinckevich et al., 2009; Sköld et al., 2009). Термин «соматический эмбриогенез», введенный Б.П. Токиным (1959) при разработке концепции развития целого организма из группы соматических клеток, становится широко используемым – без ссылки на автора. Соматический эмбриогенез нередко рассматривается как состояние, характерное для низших многоклеточных животных (Blackstone, Jasker, 2003).

Рассмотренная выше полиэмбриония сходна с почкованием (Perez, 1931; Ghiselin, 1987); почкование весьма широко распространено в животном мире как способ бесполого размножения и образования колоний. При бесполом, агамном размножении происходит естественное клонирование организма, развившегося из зиготы, с образованием множества генетически идентичных индивидов или модулярных единиц колонии. У животных с половым размножением все дефинитивные ткани и органы детерминируются в эмбриогенезе, но при бесполом размножении морфогенетический процесс многократно повторяется в течение жизни, подобно тому, что наблюдается у растений (Иванова-Казас, 1996; Исаева, 2010). У размножающихся бесполым путем беспозвоночных не происходит обособления линии половых клеток; тоти/плюрипотентные стволовые клетки способны к реализации всей программы развития, включающей гаметогенез и бластогенез.

Одной из иллюстраций разнообразия бесполого размножения может служить одновременное прохождение стробиляции и отделения подоцист сцифистомами в жизненном цикле сцифомедузы *Pelagia colorata*: стробиляция ведет к отделению плавающих эфир, развивающихся затем в половозрелых медуз, тогда как подоцисты становятся сцифистомами, способными к дальнейшей стробиляции (Langstroth, Langstroth, 2000) (рис. 78).



Рис. 78. Стробиляция и отделение подоцист полипами сцифомедузы *Pelagia colorata* (по Langstroth, Langstroth, 2000).

Представление о проявлениях бесполого размножения, клонирования и колониальности только у низших животных весьма распространено (см. Blackstone, Jasker, 2003). Данные о бесполом размножении среди хордовых (у оболочников) и колониальной организации членистоногих (у корнеголовых ракообразных) противоречат этой догме. Утверждение о неспособности позвоночных к клонированию путем бесполого размножения (Blackstone, Jasker, 2003) опровергается давно известными фактами факультативной и облигатной полиэмбрионии среди млекопитающих. Разнообразные формы бесполого размножения описаны у асцидий и других оболочников, представителей типа хордовых (см. Иванова-Казас, 1977, 1995; Swalla, 2006; Stolfi, Brown, 2015) (рис. 79).

В некоторых обзорах (Blackstone, Jasker, 2003; Sköld et al., 2009) и большинстве современных учебников ракообразные, подобно всем представителям членистоногих и всей ветви Ecdysozoa, рассматриваются как неколониальные и неспособные к клонированию. Однако у представителей корнеголовых ракообразных (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) описана колониальная организация, возникающая путем бесполого раз-

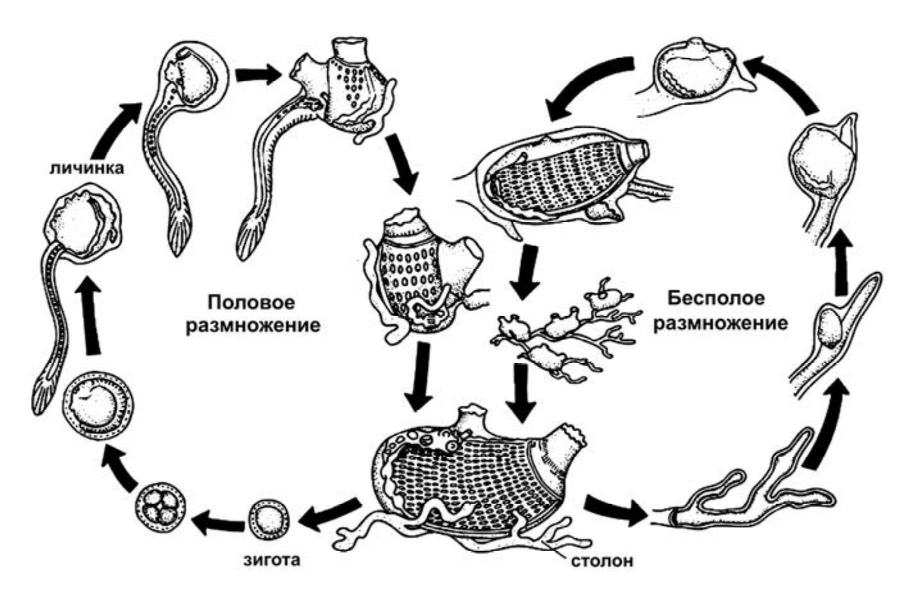


Рис. 79. Схема жизненного цикла колониальных асцидий: сочетание полового и бесполого размножения путем почкования столона (по Swalla, 2006).

множения на эндопаразитической стадии жизненного цикла (см. Høeg, Lützen, 1995; Glenner et al., 2003; Исаева, Шукалюк, 2007; Shukalyuk, Isaeva, 2012). Вероятно, отрицание колониальности корнеголовых в значительной мере обусловлено отсутствием до недавнего времени ясной визуализации колониальной интерны. Нам удалось визуализировать колониальность и процесс бесполого размножения путем почкования без потери связи развивающихся бластозооидов со столоном у корнеголовых *Peltogasterella gracilis* и *Polyascus polygenea* (Исаева, Шукалюк, 2007; Исаева и др., 2008; Isaeva et al., 2001, 2004; Shukalyuk et al., 2005, 2007; Shukalyuk, Isaeva, 2012, 2013) (рис 80).



Рис. 80. Визуализация колониальной организации ранних бластозооидов *Peltogasterella gracilis* (Исаева и др., 2003).

Такие наблюдения не оставляют сомнений в колониальной организации этих корнеголовых на эндопаразитической стадии жизненного цикла. Бластогенез и колониальность таких видов корнеголовых вовлекают радикальное, эволюционно вторичное преобразование предковой репродуктивной стратегии, включая предельно выраженный половой диморфизм, утрату на паразитической стадии морфологии и плана строения членистоногих, а также вторичный переход от детерминированного мозаичного дробления с ранним выделением полового зачатка к дроблению с эквипотенциальными бластомерами, содержащими герминальные гранулы. В связи с паразитизмом жизненный цикл Rhizocephala необычен (рис. 81).

Характерные морфологические признаки ракообразных проявляются у Rhizocephala лишь на личиночных стадиях, включающих две формы: науплиус и циприсовидная личинка. У личинок обоих полов наблюдается прогенез, они несут клетки половой линии, которые личинка женского пола «инъецирует» в организм хозяина, десятиногого рака; из этих клеток развивается интерна, лишенная морфологических признаков членистоногих. У колониальных корнеголовых ракообразных интерна путем почкования становится колониальной; женская колония включает десятки и даже сотни экстерн (редуцированных половозрелых бластозооидов). Личинки мужского пола внедряются в рецептакулы экстерны и редуцируются в процессе метаморфоза до линии сперматогенных клеток; паразитический моноклональный колониальный женский организм может нести множество сперматогенных клонов, превращаясь в мульти-

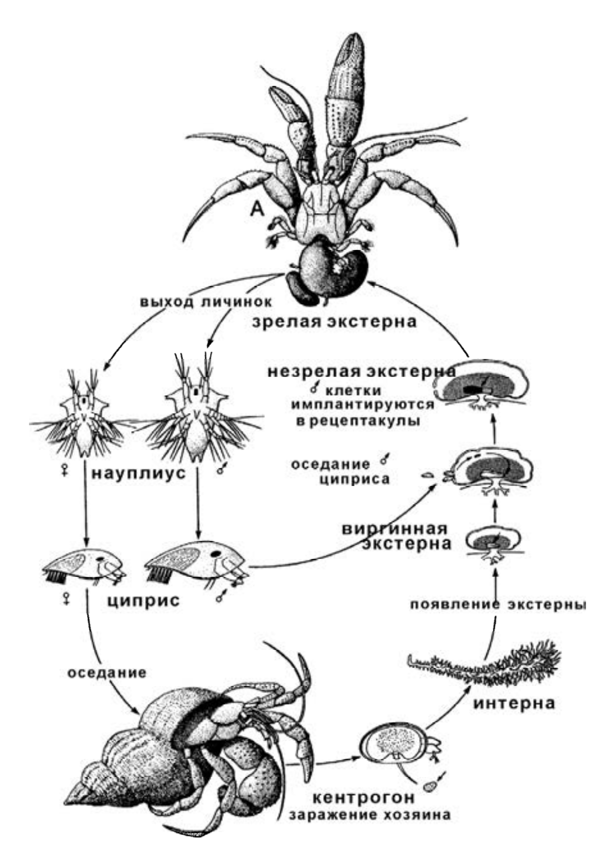


Рис. 81. Жизненный цикл корнеголового ракообразного (по Høeg, 1992).

клональную химеру. Таким образом, репродуктивная стратегия морских колониальных беспозвоночных включает каскад бесполого и полового размножения, обеспечивающий огромную численность потомства и репродуктивный успех. Клеточной основой репродуктивной стратегии Rhizocephala, включающей половое и бесполое размножение, служат тоти- или плюрипотентные стволовые клетки (Исаева, Шукалюк, 2007; Исаева и др., 2008).

При бесполом размножении личинок иглокожих, найденном у звезд, офиур, голотурий и ежей, происходит клонирование организма на личиночной стадии (Jaeckle, 1994; Vickery, McClintock, 2000; Rinkevich et al., 2009) (рис. 82).

Вторичные личинки иглокожих развиваются путем реорганизации личиночных тканей, при этом происходит процесс, подобный гаструляции, с формированием бластопора; затем почка отделяется и далее развивается независимо (Jaeckle, 1994; Balser, 1998).

Генетические предпосылки к эволюционно вторичному возникновению бесполого размножения, вероятно, связаны с особенностями генетических регуляторных программ раннего развития. Возможно, возникновение бесполого размножения среди членистоногих и низших хордовых обусловлено ослаблением жесткого контроля плана строения развивающегося организма *Hox*-генами (см. главу 3).

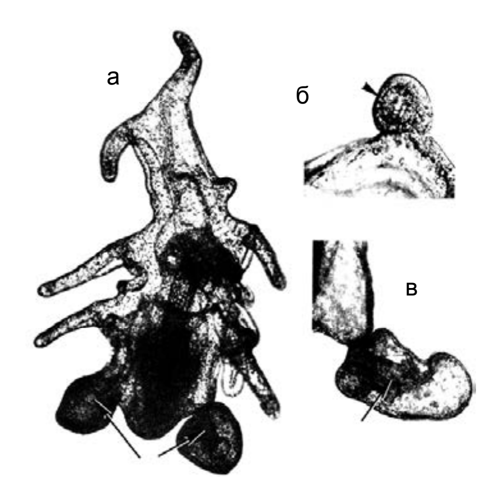


Рис. 82. Бесполое размножение личинок морских звезд *Luidia*: а – личинка с двумя почками; б, в – морфология отдельных почек (почки указаны стрелками; по Jaeckle, 1994).

Половое размножение относительно консервативно во всем животном царстве (Sköld et al., 2009). Ранние стадии эмбриогенеза, как правило, единообразны ввиду монофилии многоклеточных животных; в бластогенезе животных разных таксонов такого единообразия нет, потому что бесполое размножение возникало в эволюции различных ветвей многоклеточных животных неоднократно и независимо (Иванова-Казас, 1977, 1996; Sköld et al., 2009). Бесполое размножение очень вариабельно; бластогенез и эмбриогенез характеризуются фундаментальными различиями (Бунур, 1968; Иванова-Казас, 1996). Преобразования бластогенеза играют в эволюции не меньшую роль, чем преобразования эмбриогенеза, но им уделено меньше внимания (Иванова-Казас, 1996).

О.М. Иванова-Казас (1996) в своем перечне принципиальных отличий бластогенеза от эмбриогенеза называла отсутствие дробления и гаструляции, а также дедифференцировку клеток при почковании, "забывающих" свое происхождение от определенного зародышевого листка. Рассмотрим перечисленные отличия бластогенеза от эмбриогенеза. Стадия дробления при бластогенезе, несомненно, выпадает, и стволовые клетки можно уподобить эмбриональным клеткам зародыша стадии морулы. Бриан (1968) писал, что геммула губок и формирующийся при почковании у медуз узелок вполне сравнимы со стадией морулы в эмбриогенезе. Стволовые клетки внутри самой ранней почки корнеголовых ракообразных *Polyascus polygenea* и *Peltogasterella gracilis* также формируют подобие морулы; морулоподобная стадия бластогенеза у корнеголовых – результат агрегации 10–15 стволовых клеток (Исаева, Шукалюк, 2007; Исаева и др., 2008). Бриан (1968) полагал, что в почке асцидий сразу реализуется структура гаструлы, однако, по нашему мнению и наблюде-

ниям почкования асцидии *Botryllus tuberatus*, такая структура возникает после агрегации стволовых клеток внутри почки с последующей эпителизацией наружного слоя клеточного агрегата. При сосудистом почковании ботриллид также сначала происходит агрегация стволовых клеток, затем путем последующей эпителизации наружного слоя клеточного агрегата возникает гаструлоподобная структура. Обнаружение скоплений стволовых клеток в ранних почках *Botryllus tuberatus* (Ахмадиева и др., 2007) проясняет происхождение клеточного материала всех трех зародышевых листков, источником которого при паллеальном почковании ботриллид считали эндобранхиальный эпителий (Berrill, 1961; Иванова-Казас, 1977).

Процесс, подобный гаструляции морулоподобного агрегата клеток путем деламинации с образованием наружного эпителизованного слоя и внутренней массы клеток, осуществляется в ходе раннего бластогенеза. Что же касается происхождения бластогенных клеток от «определенного зародышевого листка», то популяция стволовых клеток, играющих ключевую роль в бластогенезе, не принадлежит какому-либо зародышевому листку. У колониальных асцидий найдены плюрипотентные стволовые клетки, дающие начало половой и соматическим линиям клеток (Pancer et al., 1995; Weissman, 2000; Laird et al., 2005; Sunanaga et al., 2007; Rinkevich, 2009; Rinkevich et al., 2009). Проблема возможной дедифференцировки соматических клеток в процессе бластогенеза и регенерации не столь очевидна, и ее решение требует применения специфических маркеров. Представление о высокой пластичности развития и судьбы клеток у колониальных животных (Frank et al., 2009; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009), сходной с тем, что наблюдается у растений (Sköld et al., 2009), кажется достаточно обоснованным. Однако у растений полностью дифференцированные клетки, по-видимому, сохраняют способность дедифференцироваться и становиться тотипотентными стволовыми клетками (Батыгина, Рудский, 2006; Lohman, 2008; Batygina, 2010); такая способность, как правило, отсутствует у клеток животных на стадии терминальной дифференцировки.

У животных, индивидуальное развитие которых при половой репродукции включает личиночную фазу, при бластогенезе полностью выпадает эта фаза онтогенеза. Итак, морфогенез при бесполом размножении у животных не полностью повторяет эмбриогенез, а обеспечивающие его стволовые клетки не тождественны соматическим. Поэтому термин “соматический эмбриогенез” не вполне корректен, предпочтительным кажется термин “бластогенез” (Berrill, 1961), относящийся именно к бесполому размножению животных; для растений предложен термин “эмбриоидогенез” (Batygina, 1991, 2010, 2011).

Неоднократное образование зооидов при бесполом размножении является повторным морфогенезом на основе бластогенеза (Догель, 1962);

благодаря бесполому размножению и формированию колоний живые системы могут переходить с одного конструктивного уровня на другой, более высокий (Беклемишев, 1964; Иванова-Казас, 1996). При бесполой, агамной репродукции развивающегося из зиготы организма возникает множество генетически идентичных индивидов или модулярных единиц колонии, происходит естественное клонирование материнского организма. Повторный морфогенез с развитием множества подобных друг другу модулей разного размера и разных стадий развития – эффективный способ многократного морфогенеза, а также перехода на уровень колониальной организации (Исаева, 2010).

Регулятивные возможности систем эмбриональных клеток

Сравнение естественного эмбриогенеза животных с его модификациями в эксперименте помогает понять пластичность морфогенеза, которая наиболее наглядно раскрывается в опытах с культивированием *in vitro* диссоциированных клеток зародышей. Одним из первых эксперименты по диссоциации клеток губок, объединявшихся в агрегаты, которые становились маленькими губками, провел Вильсон (Wilson, 1907); такая способность к восстановлению целостного организма из диссоциированных клеток рассматривается как примитивная форма бластогенеза (Иванова-Казас, 1977). Позже подобные экспериментальные исследования проводились на зародышах морского ежа; было показано, что реагрегаты диссоциированных эмбриональных клеток развиваются с образованием плавающих «эмбриоидов» (Giudice, 1962; Spiegel, Spiegel, 1975, 1986) и затем более или менее нормальных личинок (Giudice, 1962), после метаморфоза становящихся фертильными морскими ежами (Hinegardner, 1975). Подобные эксперименты демонстрируют удивительные возможности самоорганизации клеток *in vitro* (Isaeva et al., 2008, 2012).

Диссоциированные бластомеры морской звезды или морского ежа, лежащие на дне чашек в виде рыхлого слоя клеток, в период, соответствующий стадии эпителизации бластулы, плотно смыкаются с образованием эпителиального пласта. Затем края однослойной клеточной пластинки, изгибаясь, приподнимаются над субстратом и смыкаются, завершая образование бластулы столь необычным способом, названным бластуляцией (Dan-Sohkawa, Fujisawa, 1980; Kadokawa et al., 1986) (рис. 83).

Подобным образом бластомеры морского ежа *Strongylocentrotus nudus* смыкаются в однослойную эпителиальную пластинку, края которой изгибаются кверху, начиная смыкаться; биение ресничек образующейся таким необычным путем бластулы делает эмбриоид подвижным (Исаева, 1994; Isaeva et al., 2008). Таким образом, формирование бластулы иглокожих – не просто итог дробления, но активный процесс включения



Рис. 83. Последовательность бластуляции реагрегата эмбриональных клеток морской звезды *Asterina pectinifera* (Kadokawa et al., 1986).

подпрограммы развития периода бластуляции. Формирование мезодермы у зародышей морской звезды, развившихся из реагрегатов диссоциированных эмбриональных клеток, может осуществляться как нормальным энтероцельным способом, так и необычным для иглокожих и всех вторичноротых путем агрегации подвижных мезодермальных клеток с последующим возникновением внутренней полости, т.е. шизоцельным способом (Tamura et al., 1998) (рис.84).

Таким образом, бластуляция, гаструляция и образование мезодермы (Millonig, 1975; Tamura et al., 1998; Isaeva et al., 2008) при развитии целого организма из диссоциированных бластомеров иглокожих осуществляется иначе, чем в ходе эмбриогенеза интактных зародышей, приводя при этом к развитию нормального организма. Развивающаяся система

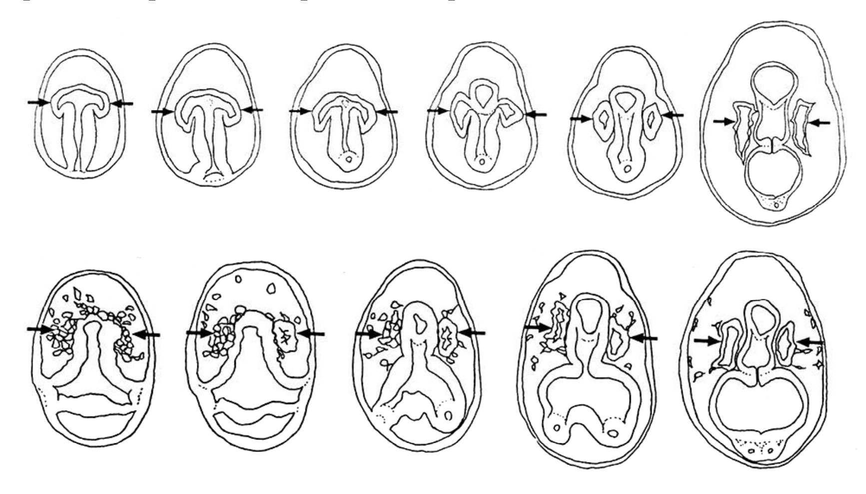


Рис. 84. Энтероцельное образование мезодермы (верхний ряд) и ее формирование подвижными мезодермальными клетками (внизу) (Tamura et al., 1998).

эмбриональных клеток способна к достижению финального состояния разными путями, демонстрируя эквифинальность развития.

Крупные химерные реагрегаты, образовавшиеся после диссоциации на клетки множества зародышей морского ежа, способны к отделению от общей массы бластуло- и гаструлоподобных образований (Исаева, 1994). Такое явление сходно с естественным клонированием личинок морских звезд и других иглокожих путем почкования и фрагментации с образованием вторичных личинок (см. выше).

Таким образом, экспериментальное изменение условий развития влечет за собой изменение морфогенеза системы эмбриональных клеток (Isaeva et al., 2008; Исаева, 2010). Развивающаяся клеточная система способна к морфогенезу разными путями, демонстрируя эквифинальность развития. Таким образом, изменение начальных условий морфогенеза *in vitro* влечет за собой изменение самоорганизации системы эмбриональных клеток; подобные модификации эмбриогенеза могут возникать и в эволюции при существенном изменении условий раннего развития (например, паразитизме).

В индивидуальном развитии и эволюции животных важна роль подвижности клеток и всего организма. Клетка и в многоклеточном организме сохраняет черты индивидуальной структуры, способной к поисковой активности и коллективной самоорганизации. «Клетка – сложное существо, обладающее индивидуальным очень непростым поведением» (Самойлов, Васильев, 2009, с. 239). Морфогенез животных, начиная со стадии гаструляции, осуществляется путем активного взаимодействия и миграции отдельных клеток или эпителиальных пластов. В ходе развития осуществляется активное поисковое движение клеток, например, клеток нервного гребня позвоночных (Kirshner, Gerhart, 2005). В клеточных культурах наглядно выражено поисковое движение клеток (Kirshner, Gerhart, 2005; Васильев, Гельфанд, 2006), контактная ориентация клеток (Weiss, 1958), контактное ингибирование движения клеток (Abercrombie, 1970). Поисковое движение и взаимодействие клеток проявляются как координированное «социальное» поведение, ведущее к образованию клеточных ансамблей и генерации упорядоченных морфологических паттернов (Kirshner, Gerhart, 2005; Васильев, Гельфанд, 2006; Isaeva et al., 2008, 2012; Isaeva 2014b; Deisboeck, Couzin, 2009). Например, социальное поведение культивируемых фибробластов проявляется в контактном ингибировании движения при столкновении клеток, в реакции «заживления раны», когда клетки перемещаются на освободившуюся поверхность и делятся, заселяя и заживляя «рану» (Самойлов, Васильев, 2009). Такое коллективное поведение клеток уменьшает затраты энергии на одну клетку, оптимизируя энергетические затраты популяции (Deisboeck, Couzin, 2009).

Пластичность онтогенеза и жизненных циклов животных и растений

Пластичность онтогенеза и жизненного цикла многоклеточных животных и растений связана как с модулярностью и возможностью разобщения процессов развития, так и с морфогенетическими корреляциями, сопряженностью этих процессов и целостностью онтогенеза. Фенотипическая пластичность и разнообразие морфологии растений неоднократно подчеркивались (см. Borges 2009; Singer 2010; de Bruijn et al., 2012). Многовариантные пути формирования растений могут включать как половой, так и бесполый процесс, с чередованием поколений: эмбриогенез с предшествующим половым процессом, партеногенез, эмбриоидогению (соматический эмбриогенез) и гemморизогенез, т.е. образование побегов и корней (Batygina, 1999, 2010, 2011; Батыгина, Виноградова, 2007). Эмбриоидогения – бесполое размножение растений с формированием эмбриоида из соматических клеток, путем агамной репродукции, т.е. естественного клонирования материнского организма (Batygina, 1999, 2010, 2011). При бесполой, агамной репродукции растений возможна как эмбриоидогения, так и полиэмбриония, спорофитная и гаметофитная (Batygina, 2010, 2011). Семена цветковых растений могут быть генетически гетерогенны в результате эмбриогении, эмбриоидогении, гаметофитного и спорофитного апомиксиса (Батыгина, Рудский, 2006; Батыгина, Виноградова, 2007; Batygina, 2010, 2011).

Как известно, жизненный цикл многоклеточных растений (в отличие от животных) включает чередование гаметофита и спорофита. Редуцированный гаплоидный гаметофит развивается в организме спорофита (см. Langdale, Harrison, 2008; Singer 2010). Таким образом, у растений наблюдается переключение программ развития спорофита и гаметофита, эмбриогенеза и эмбриоидогенеза, а также переключение вегетативной программы развития на флоральную у покрытосеменных растений.

Особенности репродукции и выживания растений связаны с сидячим образом жизни, аутотрофией, длительностью роста и повторяемостью морфогенеза (Batygina, 1991, 2010, 2011; Meyerowitz, 2002; Lohman, 2008; Sablowski, 2010). Стратегией выживания и воспроизводства неподвижных организмов и клеток растений стала возможность восстановления целостности организма его частью и даже одной соматической клеткой. Растение более зависимо от влияния физических (световых) и других факторов среды, чем организм большинства животных.

Подвижность клеток и всего организма играла важную роль в эволюции животных. Однако при седентарном образе жизни колониальных беспозвоночных стратегия репродукции и выживания подобна той, что наблюдается у растений, и нередко вовлекает после половой репродукции каскад бесполого размножения с возникновением генетически идентич-

ных индивидов или модулярных единиц колонии (Исаева, 2010; Исаева, Батыгина, 2010; Батыгина, Исаева, 2016). Формирование организма животных оказывается многовариантным, включающим канонический половой процесс, партеногенез, полиэмбрионию и разнообразные типы агамной репродукции (почкования и деления особи), подобные эмбриоидогении и гемморизогении растений. Поскольку у животных отсутствуют аналогичная гаметофиту многоклеточная гаплоидная фаза и флоральные формы, несколько сужено соответственно и разнообразие агамной репродукции, в частности, исключена наблюдаемая у цветковых растений гаметофитная полиэмбриония с развитием зародыша из синергидных или антиподальных клеток, а также флоральная эмбриоидогения.

Таким образом, в жизненном цикле растений и животных нередко наблюдается агамная репродукция с развитием нового индивида без полового процесса, путем естественного клонирования материнского организма. У животных такой процесс обычно именуется бластогенезом (см. Иванова-Казас, 1996; Исаева и др., 2009; Исаева, 2010). Явление агамной, бесполой репродукции растений и животных ранее было названо соматическим эмбриогенезом (см. Batygina, 1991, 2010, 2011; Rinckevich et al., 2009). Однако процесс бластогенеза или эмбриоидогенеза не полностью воспроизводит эмбриогенез, и дающие начало агамному развитию стволовые клетки не идентичны яйцеклетке (Исаева, 2010; Batygina, 2010, 2011), поэтому термин «соматический эмбриогенез» не вполне корректен. Бластогенез и эмбриогенез характеризуются фундаментальными различиями (Иванова-Казас, 1996; см. выше).

Клеточной основой клонального морфогенеза при бесполом размножении служат стволовые клетки с широким или неограниченным морфогенетическим потенциалом (Исаева, Батыгина, 2010; Батыгина, Исаева, 2016): применительно к животным это бластогенез (Berrill, 1961; Бриан, 1968; Иванова-Казас, 1977, 1996), а к растениям – соматический эмбриогенез (см. Singer 2010) или эмбриоидогенез (Batygina, 1991, 2010, 2011). Половое размножение животных и растений относительно консервативно, тогда как при бесполом размножении, возникавшем в эволюции неоднократно и независимо, нет единообразия (Иванова-Казас, 1996; Sköld et al., 2009).

Общепринято признание важности полового размножения для создания генетической вариабельности, тогда как при бесполом клонировании разнообразие организмов ограничено (см. Ghiselin, 1987; Craig et al., 1997; Sköld et al., 2009), поскольку при агамной репродукции и партеногенезе нет генетической рекомбинации. Как преимущество бесполого размножения отмечена возможность быстрой колонизации экологической ниши без «инвестиций» в гаметогенез и половой отбор (Sköld et al., 2009). В качестве выигрыша рассматривается также возможность существенного умножения числа клонов выжившего организма, что способ-

ствует освоению и быстрому заполнению уже занятой родительским организмом локальной экологической ниши с амплификацией успешного родительского генотипа (Craig et al., 1997). При чередовании полового и бесполого размножения в жизненном цикле животных и растений половой процесс обеспечивает генетическую рекомбинацию, а возникновение огромного числа личинок у водных беспозвоночных (или семян у растений) – функцию расселения и дальнейший репродуктивный успех. Успешная жизненная стратегия водных организмов обычно зависит от выживания личинок, выполняющих функцию расселения и поиска места обитания (Ghiselin, 1987; Kasyanov, 2001). Таким образом, репродуктивная стратегия многих многоклеточных организмов включает каскад бесполого и полового размножения, обеспечивающий огромную численность потомства и репродуктивный успех, и в этом – преимущество такой стратегии (Исаева и др., 2008, 2009; Исаева, 2010).

И у животных, и у растений наблюдается партеногенез и полиэмбриония (Batygina, 2010, 2011; Батыгина, Виноградова, 2007; Исаева, Батыгина, 2010). В ходе нормального онтогенеза растений возможно возникновение генетических химер (Батыгина, Виноградова, 2007; Batygina, 2010). У многих животных, включая млекопитающих и человека, также наблюдается химеризм (Rinkevich, 2009), например, колониальный женский организм паразитических корнеголовых ракообразных может нести множество генетически различных сперматогенных клонов, становясь мультиклональной химерой (см. выше).

Относительная автономия, модулярность отдельных стадий и процессов развития, контролируемых модулярными генетическими сетями, создает возможность их диссоциации с дупликацией, переносом, выпадением или вставкой, что ведет к формированию в ходе эволюции разнообразных вариантов развития животных и растений. Появление полиэмбрионии и других способов бесполой репродукции, а также вторичных личинок служит примерами вставок в онтогенез дополнительных стадий развития. Вставки полиэмбрионии могут быть обусловлены гетерохронией экспрессии генов, контролирующих деление бластомеров. Подобное временнóе смещение размножения недифференцированных стволовых клеток связано и с почкованием. Возникновение резервов стволовых клеток могло быть обеспечено гетерохронным сдвигом экспрессии генов, регулирующих прохождение митотического цикла эмбриональными клетками, на более поздние стадии онтогенеза. Таким образом, при подобных процессах бесполого размножения на основе диссоциации стадий развития осуществляются многократные повторы стадии дробления или стадии гаструляции.

Нередко происходит выпадение стадий развития, например, при партеногенезе (исчезновение делений созревания и оплодотворения), при эмбрионизации развития (выпадении личиночных стадий). При бластогенезе

выпадает стадия дробления; у животных, индивидуальное развитие которых при половой репродукции включает личиночную фазу, при бластогенезе исчезает эта фаза онтогенеза. У многих мшанок в связи с лецитотрофией личинки, лишенной кишечника, энтодерма как обособленный листок часто не образуется (Иванова-Казас, 1995), т.е. в развитии происходит полное выпадение этого зародышевого листка и его производных. Подобным образом лецитотрофная личинка корнеголовых паразитических ракообразных лишена кишечника, который не возникает и после метаморфоза на эндопаразитической стадии жизненного цикла (см. Исаева, Шукалюк, 2007; Исаева и др., 2008). Личиночная стадия элиминируется, когда личинка утрачивает свое биологическое значение (Иванова-Казас, 1995).

Усложнение онтогенеза вовлекает последовательное переключение программ онтогенеза при переходе от клеточной репродукции к клеточной дифференцировке (в эмбриогенезе, бластогенезе, при физиологической и репаративной регенерации), от личинки к дефинитивному животному, от эмбриогенеза к бластогенезу (при вставке бесполого размножения в жизненный цикл), от программы развития личинки к программе метаморфоза и развития взрослого организма. Появление альтернативных путей развития при полифении, связанное с переключением программы, ведет к разветвлению онтогенетических траекторий, контролируемому генетически и эпигенетически.

Успешные эволюционные находки – гены, модули генных сетей, траекторий и сетей развития дуплицировались. В эволюции использованы многократные повторы генов, генных кластеров, геномов; в индивидуальном развитии на основе диссоциации стадий развития используются повторы стадий дробления, бластуляции, гаструляции, бластогенеза (при полиэмбрионии и других типах бесполого размножения). Повторяемые события морфогенеза базируются на повторном включении генной активности. Известно, например, что экспрессия генов *Bra* и *otx*, участвующих в гаструляции и спецификации передней части тела, вновь активируется при образовании стомодеума (см. Baguña et al., 2008).

В то же время процессы развития, как и морфогенетические поля действия генов, начиная с глобального морфогенетического поля ооплазмы, обладают интегрированностью.

При усложнении и удлинении онтогенеза личиночные стадии развития часто берут на себя выполнение каких-то жизненно важных функций (например, расселения у морских беспозвоночных или питания и накопления запасных питательных веществ у насекомых), что приводит к возникновению специализированных личиночных форм и метаморфоза (Иванова-Казас, 1995). Наиболее выражены «разделение труда между личинками и взрослыми» и «родительская эксплуатация личинок» (Ghiselin, 1987) у насекомых, имаго которых не питаются и заняты лишь половым размножением. Из-за приспособления к смене времен года или

к смене хозяев у паразитических животных возникает чередование поколений, различающихся морфологически и по способу размножения, и вырабатываются сложные жизненные циклы.

Таким образом, в жизненном цикле животных и растений происходит последовательное переключение программ развития, выбор одного из альтернативных путей онтогенеза при полифении и чередовании поколений, изменение программы при вставке или выпадении какой-либо стадии развития. Весьма обычна повторяемость морфогенетических событий в развитии.

При регенерации, как и при бесполом размножении, вероятно, осуществляется повторное включение соответствующей части программы развития. Включение программы развития, регулируемой *Hox*-генами, продемонстрировано при регенерации полихеты *Alitta virens* (Novikova et al., 2013). У высших животных способность к регенерации ограничена, но она может быть усилена некоторыми экспериментальными воздействиями. Показано, что сигнальный путь Wnt, регулирующий развитие конечностей позвоночных животных, функционирует также при регенерации конечностей; экспериментальные воздействия, изменяющие активность этого сигнального пути, способны соответственно активировать или подавлять регенерацию конечностей аксолотля, лягушки *Xenopus* и рыбки *Danio* (Kawakami et al., 2006).

Целостность онтогенеза и эволюционная стратегия

Согласно концепции И.И.Шмальгаузена, эволюция происходит путем отбора целых онтогенезов; эта целостность подчеркнута заглавием его монографии «Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии» (Шмальгаузен, 1938, 1983). Взрослое состояние животного неотделимо от его развития (Иванова-Казас, 1995). Фактор целостности в эмбриологии обычно связывается с анизотропным морфогенетическим полем, контролирующим ход развития и преобразуемым в его процессе (Шишкин, 2006). Канализированность, направленность онтогенеза и устойчивость его конечной, взрослой стадии известна как принцип эквифинальности (Driesch, 1908; Шишкин, 2006).

Концепция репродуктивной стратегии привлекает внимание к целостности онтогенеза и жизненного цикла, органично дополняя представление о модулярности процессов развития многоклеточных животных. Эта концепция рассматривает совокупность эволюционно значимых, связанных с размножением и развитием адаптивных признаков; «цена» репродукции определяется расходом энергии (Wilbur et al., 1974; Gould, 1977; Касьянов, 1989, 1997; Kasyanov, 2001).

Исходно термин «репродуктивная стратегия» был введен применительно к растениям, контраст стратегии размножения которых иллюстрируется

такими крайностями, как, например, рассеивание множества семян одуванчиком, и альтернативный пример заботы о потомстве – образование немногочисленных плодов и ягод, содержащих семена. Позже эти представления были распространены на животных, репродуктивная стратегия которых еще более контрастна – от освобождаемых в морскую воду тысяч и миллионов половых клеток и оставляемых на произвол судьбы зародышей до вынашивания и долгого воспитания детенышей млекопитающих. В ходе дальнейших исследований репродуктивной стратегии была расширена ее связь с эволюционной биологией (см. Pianka, 1970; Reznick et al., 2002; Minelli, 2012). Концепция репродуктивной стратегии стала включать анализ таких эволюционно значимых, связанных с размножением и развитием адаптивных признаков, как размер животного, возраст наступления половой зрелости, плодовитость, родительский вклад в потомство и т.д. (Pianka, 1970; Ricklefs, 1973; Gould, 1977; Wilbur, 1980; Касьянов, 1989; Kasyanov, 2001). Стратегия, включающая высокий родительский вклад в каждого потомка, связана с отбором на поддержание стабильности популяции и выживаемость малочисленного потомства (см. MacArthur, Wilson, 1967; Pianka, 1970; Ricklefs, 1973; Kasyanov, 2001; Reznick et al., 2002; Gunbin et al., 2011).

В.Л. Касьянов расширил и углубил концепцию репродуктивной стратегии, распространив ее на морских беспозвоночных и рассматривая морфофункциональные изменения, сопряженные с эволюционными изменениями биологии размножения и развития, на разных уровнях организации. Был применен точный количественный подход к оценке энергетических затрат на производство потомства – метод определения «энергетического бюджета» мидии и морской звезды как представителей моллюсков и иглокожих. Репродуктивная стратегия в интерпретации В.Л. Касьянова понимается как комплекс адаптивных признаков и черт биологии размножения и развития, который затрагивает все уровни организации от молекулярного и субклеточного до организма (включая его физиологию и поведение), вида и биоценоза (Касьянов, 1989; Kasyanov, 2001). Яркой иллюстрацией целостности и сопряженности процессов развития могут служить данные, полученные на морской звезде *Henricia hayashi* (Kasyanov, 2001). Изменение предковой репродуктивной стратегии *H. hayashi* вовлекает существенное преобразование процессов оогенеза, эмбрионального развития и материнского поведения. У этого вида вторично появилось прямое, с выпадением личиночной стадии и метаморфоза, развитие, протекающее очень быстро, в течение трех-четырех дней под материнской защитой. Размер яйцеклетки *H. hayashi* многократно превышает размер яйца морских звезд, имеющих планктотрофную личинку. В ходе оогенеза *H. hayashi* был выявлен уникальный каскадный механизм интенсивной амплификации локусов ДНК, кодирующих рибосомную РНК, с отделением их от хро-

мосомы и формированием множественных ядрышек, содержащих экстрахромосомную рДНК. Таким образом, был открыт необычный механизм многократного умножения продукта рибосомных генов (ранее была известна амплификация таких локусов в составе хромосомы лягушки, с отделением множественных ядрышек, содержащих только рибосомную РНК). Очевидно, что изменение репродуктивной стратегии морской звезды вовлекло все уровни организации от молекулярного до поведенческого (Kasyanov, 2001).

Радикальное преобразование анцестральной репродуктивной стратегии у колониальных представителей паразитических корнеголовых ракообразных также затрагивает все уровни организации от молекулярного и субклеточного до видового и биоценотического (Касьянов и др., 1997, 1999; Исаева и др., 2008, 2009; Исаева, Шукалюк, 2007; см. выше). Преобразования репродуктивной стратегии корнеголовых включает гетерохронии, гетеротопии и аллометрический рост. В таком расширенном понимании представление о репродуктивной стратегии уходит от первоначальной концепции, базировавшейся на динамике численности популяций (MacArthur, Wilson, 1967) и связанной с исследованиями процессов микроэволюции, становясь концепцией эволюционной стратегии. Такая концепция отвергает имаго-централизм, рассматривая, например, личинок как полноценные организмы, формирующие важный компонент сообществ в настоящее время и в отдаленном прошлом (Kasyanov, 2001).

И.И. Шмальгаузен (1938, 1983) подчеркивал значение различных форм корреляций в индивидуальном развитии. Морфогенетические корреляции проявляются в виде связи между частями развивающегося организма и взаимозависимости процессов морфогенеза (Шмальгаузен, 1938, 1982). Недавно выявленная корреляция целостности кластеров и временнóй колинеарности со скоростью и характером эмбриогенеза (Duboule, 1994; Ferrier, Holland, 2002; Monteiro, Ferrier 2006; Tschopp, Duboule, 2011; см. главу 3) вместе с анализом эволюционного вклада неотении либо прогенеза позволяет постулировать различие эволюционной стратегии разных таксономических групп билатеральных животных (Исаева, 2015а, 2016; Isaeva, 2015, 2016).

Увеличение ресурсов стволовых клеток и длительности развития способствует расширению эволюционного потенциала и ароморфным преобразованиям, что наиболее выражено у хордовых животных, особенно высших представителей позвоночных, в эволюции которых велик вклад неотении в сочетании с пераморфозом. Такое сочетание коррелирует с отбором на выживаемость, увеличением размера тела, удлинением жизни, заботой о потомстве. Представители типа Chordata (за исключением оболочников), умножая ароморфные преобразования *Hox*-системы и других регуляторных систем генных сетей, наращивая ресурсы клеточного материала, совершенствуя головной мозг и поведенческие реакции,

реализовали эволюционное восхождение от низших хордовых к высшим позвоночным.

Появление нейральной пластинки как четвертого зародышевого листка (нейродермы) – ароморфная эволюционная инновация хордовых-позвоночных, обеспечившая возникновение огромного клеточного ресурса нейрогенеза и быструю эволюцию мозга. Развитие внутреннего скелета позвоночных в значительной мере сняло ограничения размера тела и обеспечило возникновение сложного двигательного поведения; у млекопитающих возникла репродуктивная стратегия с небывало высоким родительским вкладом в потомство. Хордовые предки позвоночных избежали избыточной специализации и потерь генных регуляторных систем, расширив свой эволюционный потенциал (Ruppert, 1997), тогда как радикальные перестройки *Hox*-кластеров у оболочников (David, Mooi, 2014) привели к изменениям по типу идиоадаптаций.

Альтернативная эволюционная стратегия проявилась у организмов с детерминированным развитием и малоклеточностью. Предполагается, что в эволюции Ecdysozoa, а также оболочников среди Chordata доминировал прогенез, коррелирующий с быстрым половым созреванием, малыми размерами организма, коротким жизненным циклом, высокой плодовитостью, что обеспечивает быстрый рост популяций и освоение новых экологических ниш, однако эволюционные изменения оказываются лишь идиоадаптациями (Исаева, 2015; Isaeva, 2016).

Таким образом, в эволюции происходит отбор целых онтогенезов, включающих чередование поколений, последовательное переключение программ развития, выбор одного из альтернативных путей онтогенеза при полифении, вставок либо выпадений отдельных стадий. Модулярность онтогенетических процессов сочетается с их интегрированностью и целостностью онтогенеза.

Преобразования симметрии и топологии в индивидуальном развитии и эволюции Metazoa

Преобразования симметрии играют важную роль в биологическом морфогенезе; их значение велико в индивидуальном развитии и эволюционных процессах (Bouligand, 1996; Minelli, 2003; Hirokawa et al., 2009; Li, Bowerman, 2010; Beloussov, 2012; Белоусов, 2013; Исаева, 2013; Isaeva, 2013, 2014a). Помимо таких классических форм симметрии, как поворотная (радиальная), зеркальная (билатеральная) и переносная (трансляционная) симметрия (Вейль, 2003; Rosen, 2008; Beloussov, 2012; Белоусов, 2013), в биологическом морфогенезе проявляется масштабная симметрия, или симметрия подобия (Заренков, 2009; Стьюарт, 2007; Урманцев, 2007; Minelli, 2003; Исаева, 2013; Isaeva, 2013, 2014a). Число рассматриваемых типов симметрии постепенно расширяется, включая не-

линейные преобразования (Шубников, 1960; Вейль, 2003; Урманцев, 2007; Заренков, 2009).

В ходе индивидуального развития и эволюции многоклеточных животных наблюдаются сложные и закономерные изменения симметрии их тела (Беклемишев, 1964; Minelli, 2003; Урманцев, 2007). Как в онтогенезе, так и в филогенезе имеют место переходы от симметризации к диссимметризации; в целом процесс направлен в сторону диссимметризации (Урманцев, 2007), понижения порядка симметрии (Beloussov, 2012; Белоусов, 2013).

Осевая симметрия организма

Преобразования симметрии на клеточном уровне в ходе оогенеза и раннего развития определяют основные оси будущего организма, тогда как в последующем развитии масштаб преобразований симметрии уменьшается (Исаева, 2013). У исследованных многоклеточных животных анимально-вегетативная полярность яйца и переднезадняя ось будущего организма устанавливается на одноклеточной стадии, в ходе оогенеза или вскоре после контакта и слияния гамет. Различные организмы используют разные механизмы установления полярности, но все они обеспечиваются главным образом структурами цитоскелета; для поляризации ооцита требуется участие и актина, и микротрубочек, а также множества сигнальных систем клетки (главы 7, 8). Цитоскелет яйца функционирует при этом как глобальная морфогенетическая система, направляющая и поддерживающая анизотропию молекулярной информации, распределенной в ооплазме и детерминирующей осевую полярность яйца и будущего организма (Исаева, 1994; Isaeva et al., 2008, 2012). Время формирования дорсо-вентральной оси симметрии будущего организма существенно различается у животных различных таксонов, иногда даже у близкородственных организмов.

Метамерия: трансляционная симметрия

Трансляционная (переносная) симметрия именуется биологами метамерией (Беклемишев, 1964; Вейль, 2003; Minelli, 2003; Fusco, 2005; Заренков, 2009). Сегментация Annelida, Arthropoda и Chordata базируется на трансляционной симметрии с повторением сегментов вдоль оси тела (Minelli, 2003). Реже этот перенос сопровождается продольным скользящим отражением, как, например, у побегов растений и некоторых вымерших билатеральных животных.

Минелли (Minelli, 2003) определяет процесс сегментации как подразделение эмбрионального поля на отдельные популяции клеток (сомитомеры у хордовых), линейно располагающиеся вдоль переднезадней оси тела. У кольчатых червей и хордовых сегментация базируется на разде-

лении мезодермы; у членистоногих сегментация первично эктодермальная (Minelli, 2003). У членистоногих паттерн сегментации и контролирующие ее генетические механизмы различны (Minelli, 2003; Fusco, 2005).

У хордовых подразделение эмбриональной ткани на серийно повторяющиеся сегменты – фундаментальный процесс эмбриогенеза. Повторяемость структур скелета, нервной и мышечной системы позвоночных базируется на метамерии сомитов – парных эпителиальных сфер, отпочковывающихся от недифференцированной пресомитной мезодермы. Сегментация зародышей позвоночных контролируется сложной генетической сетью, генерирующей динамичную генную экспрессию с сегрегацией от пресомитной мезодермы каждой последующей пары сомитов через регулярные интервалы времени (Aulehla, Pourquié, 2010; Oates et al., 2012). Сомитогенез определяется молекулярным осциллятором, «молекулярными часами» сегментации с периодически повторяющейся, осциллирующей экспрессией определенного набора генов (Aulehla, Pourquié, 2010; Oates et al., 2012). Эти «часы» идут со скоростью один сомит за 30 минут у данио и за 90 минут у куриного зародыша (Minelli, 2003).

Пространственная периодичность формирования сомитов детерминируется сигнальными путями межклеточной коммуникации Notch и Wnt (Lewis et al., 2009; Aulehla, Pourquié, 2010; Oates et al., 2012). У разных видов позвоночных проявляется цикличная активность разных генов, только ортологи генов гомеобокса Hes1 и Hes7 цикличны у всех исследованных видов, что послужило основанием для предположения, согласно которому эти гены – часть часового механизма сегментации анцестральных позвоночных (Oates et al., 2012). Гомеобокс-содержащий ген Hes7 кодирует транскрипционный репрессор, который функционирует как эффектор сигнальной системы Notch. Осцилляция Hes7, включающая петлю отрицательной обратной связи, служит, по-видимому, молекулярной основой часов сомитной сегментации (Lewis et al., 2009; Oates et al., 2012). Осциллирующая активность транслируется в периодические изменения судьбы клеток, группирующихся в когорты, которые затем формируют сомиты – так часы молекулярной сегментации определяют периодичность повторяемого морфогенетического процесса (Oates et al., 2012). Гетерохронии «сомитных часов» могут определять вариации числа сомитов и их скелетных производных у разных представителей позвоночных (Smith, 2003; Oates et al., 2012).

У хордовых, помимо сомитомерии, проявляется и другой тип сегментации, связанный с подразделением глоточного отдела энтодермы и образованием серии жаберных щелей, т.е. хордовые обладают дополнительным вариантом трансляционной симметрии – бранхиомерией (Minelli, 2003; Рупперт и др. 2008). Таким образом, эволюция симметрии хордовых включает большее число эволюционных преобразований по сравнению с представителями Ecdysozoa и Lophotrochozoa (Isaeva, 2014a).

У членистоногих паттерн сегментации различен и контролирующие ее генетические механизмы разнообразны (Minelli, 2003; Fusco, 2005). У дрозофилы сегменты тела возникают почти одновременно; сегменты членистоногих чаще формируются последовательно в переднезаднем направлении из зоны роста, аналогично сомитам позвоночных (Minelli, 2003; Fusco, 2005; Корчагина и др., 2010). Сегментация в развитии таракана *Periplaneta americana* вовлекает механизм, подобный таковому позвоночных, включая циклическую активность Notch (Pueyo et al., 2008). Выявлен изменяющийся паттерн генной экспрессии сигнального пути Notch в пресегментной зоне представителей насекомых, многоножек и паука. Показано, что в развитии жука *Tribolium castaneum* экспрессия гена *odd-skipped*, существенного для удлинения зародышевой полоски и сегментации, осциллирует с двухсегментной периодичностью около 95 минут (Andres et al. 2012).

Сегментация тела многоножек, за исключением малого числа передних головных сегментов, обусловлена последовательным механизмом образования морфологических единиц сегментации из задней зоны роста. Показано, что ген, родственный *odd-skipped*, динамично экспрессируется с двухсегментной периодичностью в ростовой зоне многоножки, что может свидетельствовать о высоком консерватизме часов сегментации у артропод (Fusco, 2005; Andres et al. 2012).

Сходство механизма сегментации членистоногих и позвоночных привело к предположению об опосредованной сигнальной системой Notch сегментации как древнем механизме развития, унаследованном от общего предка членистоногих и позвоночных (Pueyo et al., 2008). Однако остается неясным, имеет ли часовой механизм сегментации позвоночных и артропод общее происхождение или возник независимо. Данные изучения процесса сегментации многоножек указывает на иерархическое взаимодействие генной экспрессии и эпигенетических механизмов (Fusco, 2005).

Таким образом, итерации (повторы) при трансляционной симметрии контролируются осциллирующей генной экспрессией, и молекулярные осцилляторы представляют общую черту сегментации различных животных.

Масштабная симметрия

Масштабной симметрией характеризуются фрактальные, иерархические формы (Mandelbrot, 1983; Джан, 2006; Стьюарт, 2007). Этот вид симметрии именуется также симметрией подобия, или расширения (Шубников, 1960; Вейль, 2003; Джан, 2006; Стьюарт, 2007; Урманцев, 2007; Заренков, 2009).

Фрактальная размерность характерна для многих биологических структур и процессов (Mandelbrot, 1983; Weibel, 1991; Исаева, 2005, 2015б; Isaeva, 2013, 2014а). Ветвление фрактальных структур – важный меха-

низм морфогенеза многоклеточных животных и растений. В частности, колониальные животные с повторяющимися модульными элементами – фрактальные организмы с масштабной симметрией строения всей колонии (рис. 85).

Фрактальные структуры обычны не только для седентарных (реже пелагиальных) колониальных организмов. Масштабная симметрия активно движущихся Metazoa не столь очевидна: она не охватывает план строения всего организма и проявляется локально внутри особи. У большинства многоклеточных животных организм заполнен такими ветвящимися фрактальными системами, как дыхательная, выделительная, кровеносная, лимфатическая. Формирование ветвящихся бронхиальных деревьев – классический пример фрактального морфогенеза (Mandelbrot, 1983; Metzger, Krasnov, 1999; Fleury et al., 2005).

Ветвление максимизирует общую площадь контакта между структурой и окружением и определяет упаковку этой контактной области в малом объеме, в результате чего организм получает функциональное преимущество (Исаева, 2005, 2009, 2015; Davies, 2005, 2013; Isaeva et al., 2006; 2012). Разветвленная система отростков нейронов используется для сбора и интеграции сигнальной информации (Исаева и др., 2004, 2006; Davies, 2005). Топологические и фрактальные преобразования сквозных эпителиальных систем в эволюции и онтогенезе многоклеточных животных увеличивают площадь поверхности, отделяющей внутреннюю среду организма от ее окружения, тем самым способствуя лучшей адаптации организма. Фрактальные структуры можно рассматривать как функционально оптимизированный дизайн Metazoa.

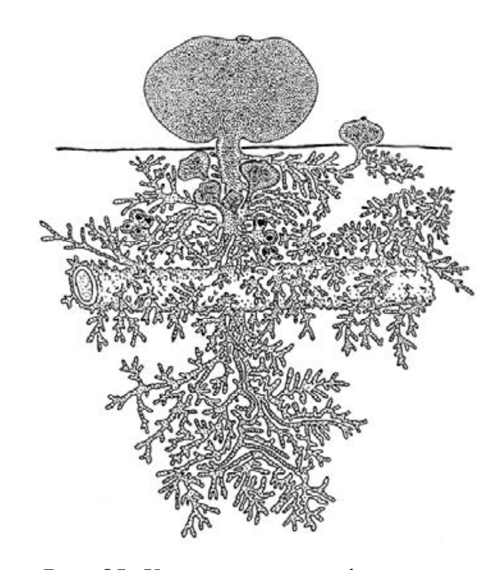


Рис. 85. Хаотизированная фрактальная организация паразитического корнеголового ракообразного *Polyascus polygenea* с множественными репродуктивными и трофическими модулями разных стадий развития (Isaeva et al., 2001).

Многие ветвящиеся биологические структуры генерируются вариациями немногих общих механизмов. Простейшая форма – дихотомическое ветвление. Другой распространенный механизм создания ветвящихся биологических структур – слияние первоначально раздельных элементов (Davies, 2005). Биологический алгоритм фрак-

тального морфогенеза сходен у насекомых и хордовых. В ходе морфогенеза дыхательной системы млекопитающих и дрозофилы найдена многократно повторяемая экспрессия генов, кодирующих фактор роста фибробластов и его рецептор, при прохождении каждого последовательного шага ветвления (Metzger, Krasnov, 1999; Warburton et al., 2000). Такой фрактальный алгоритм – эффективный путь морфогенеза на основе относительно сжатой генетической программы.

Исследован повторяемый, самоподобный морфогенез ветвящихся эпителиальных каналов гастроваскулярной системы сцифомедузы *Aurelia aurita*, жаберной трахейной системы личинок поденок *Siphlonurus immanis* и *Parameletus chelifer*, а также нейронов центральной нервной системы рыб *Pholidapus dybowskii*, *Oncorhyhchus keta* и *Oncorhyhchus masou* (Исаева и др., 2004, 2006; Исаева 2005, 2009; Isaeva et al., 2006, 2012). Важная черта фрактального морфогенеза – его пластичность, обеспечивающая возможность адаптивных реакций, в частности, после повреждения. Таким образом, эволюционные преимущества биологического фрактального морфогенеза – морфофункциональная пластичность, модулярность и сжатое генетическое кодирование.

Флуктуирующая асимметрия

У билатерально симметричных животных в той или иной мере проявляется флуктуирующая асимметрия как изменчивость в пределах организма (Захаров, 1987; Rasskin-Gutman, Izpisúa-Belmonte, 2004). Биологические фрактальные структуры неизбежно проявляют стохастическую вариабельность, и симметрия подобия биологических фрактальных структур закономерно порождает флуктуирующую асимметрию.

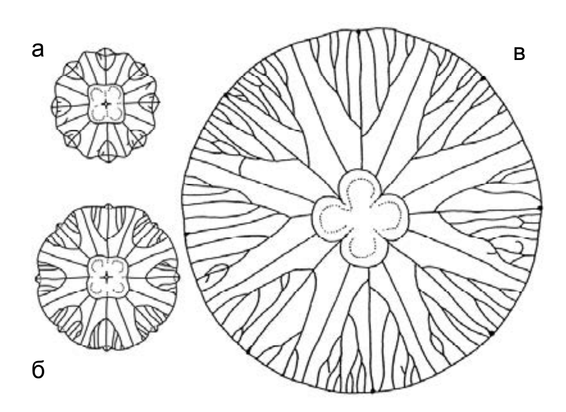


Рис. 86. Нарастающая нерегулярность ветвления радиальных каналов по мере роста и развития *Aurelia aurita*. Диаметр молодых медуз: а – 6 мм, б – 8 мм, в – 20 мм (Чернышев, Исаева, 2002).

Для оценки флуктуирующей асимметрии как меры порядка в организации систем ветвящихся каналов сцифомедузы *Aurelia aurita*, а также личинок поденок *Siphlonurus immanis* и *Parameletus chelifer,* сравнивались паттерны этих систем, представленные в виде стандартных фрактальных деревьев, в симметричных частях одного организма (Исаева и др., 2004; Isaeva et al., 2012; Исаева, 2015б).

По-видимому, у сцифомедузы *A. aurita* строго детерминированы только самые общие морфологические черты развития гастроваскулярной системы: 4-лучевая симметрия, формирование восьми ветвящихся и восьми не ветвящихся каналов, первые 2–3 шага ветвления. Существенная черта последующего ветвления каналов – вариабельность, ведущая к проявлению флуктуирующей асимметрии. Отчетливо выявляется граница между порядком и его нарушением в структурной организации ветвящихся каналов *A. aurita* (Исаева и др., 2004; Isaeva et al., 2006, 2008, 2012). Нерегулярное, хаотичное ветвление каналов гастро-васкулярной системы *A. aurita* – следствие асинхронного и топографически вариабельного развития новых ветвей (Чернышев, Исаева, 2002). Показано, что в морфогенезе ветвящихся каналов гастро-васкулярной системы *A. aurita* только два или три начальных шага ветвления стереотипны (рис. 86).

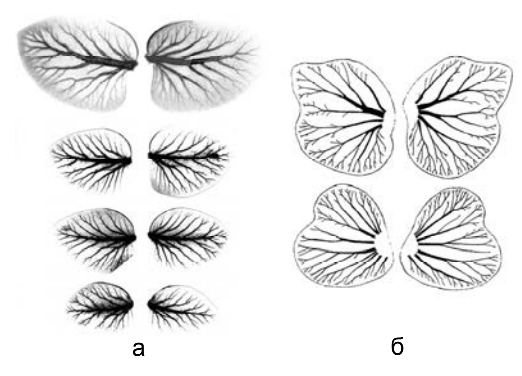


Рис. 87. Трахейные жабры одной особи личинки поденки: а – *Parameletus chelifer* (фотографии); б – двойной жаберной пары *Siphlonurus immanis* (зарисовка А.В. Чернышева) (Исаева и др., 2004).

Наличие нескольких пар жаберных лепестков у каждой личинки поденки дает обильный материал для анализа флуктуирующей асимметрии. Личиночные трахейные жабры поденок расположены по обе стороны абдомена в виде нескольких пар метамерных плоских лепестков с фрактальным паттерном трахейной системы. Семь пар трахейных жабер каждой личинки *Parameletus chelifer* дают возможность проведения количественного анализа флуктуирующей асимметрии трахейной системы. Весьма очевидна нарастающая хаотизация ветвления трахейной системы личиночных жаберных лепестков и различия паттерна ветвления в каждой паре лепестков одной личинки, разрушающие ее билатеральную симметрию (рис. 87).

Фрактальные системы организма – структурная визуализация, запись динамики морфогенетических процессов. Каскад бифуркаций в процессе ветвления ведет к нарушению симметрии организма и проявлениям флуктуирующей асимметрии. Таким образом, в ходе онтогенеза пространственная и временна́я вариабельность ветвления возрастает, разрушая радиальную симметрию взрослой медузы и билатеральную симметрию личинки поденки.

Детерминированная асимметрия левой и правой сторон тела

Различия левой и правой сторон тела билатерально симметричных животных, включающие асимметрию внутренних органов, генетически детерминированы (Minelli, 2003). Органы позвоночных расположены асимметрично не только вдоль переднезадней и дорсо-вентральной осей, но также и относительно оси, разделяющей левую и правую стороны тела (Hirokawa et al., 2009; Schier, 2009). В развитии млекопитающих лево-правая ось устанавливается последней (Hirokawa et al., 2009). Детерминация различий левой и правой сторон тела млекопитающих вовлекает морфофункциональную асимметрию биения ресничек клеток (Hirokawa et al., 2009; Schier, 2009). Ключом к выявлению механизма разрушения симметрии левой и правой сторон тела человека послужил синдром Картагенера, при котором аксонемы ресничек лишены динеинового молекулярного мотора, необходимого для подвижности ресничек и жгутиков (Baum, 2006; Hirokawa et al., 2009). Примерно половина пациентов с таким синдромом обладала органами, расположенными в обратной по отношению к норме ориентации (situs inversus), т.е. детерминация левой и правой сторон оказывалась случайной. Показано, что у зародышей млекопитающих гензеновский узелок (nodus), небольшая ямка, временно формируемая на стадии гаструлы зародышей по средней линии вентральной поверхности, покрыта эпителием, включающим 200-300 моноцилиарных клеток. Реснички этих клеток подвижны и интенсивно вращаются по часовой стрелке, генерируя направленный влево поток внезародышевой жидкости, разрушающий симметрию развития правой и левой сторон зародыша (Hirokawa et al., 2009; Schier, 2009). Гены *nodal* и *lefty*, контролирующие спецификацию лево-правой оси, экспрессируются в левой латеральной пластинке мезодермы. Сигнальная система Nodal требуется для асимметричного морфогенеза внутренних органов. Установлено, что ключевую роль в двигательной активности нодальных ресничек играет моторный белок KIF3 суперсемейства кинезинов (Hirokawa *et al*., 2009; Schier, 2009). Отсутствие KIF3 ведет к утрате подвижных ресничек. Взаимодействие Nodal/Lefty, по-видимому, амплифицирует малые начальные различия левой и правой сторон (Hirokawa et al., 2009; Schier, 2009).

Исследование, проведенное на мутантных мышах, показало, что локальный, направленный влево поток, генерируемый всего лишь двумя вращающимися ресничками, достаточен для разрушения латеральной симметрии зародыша и инициации асимметрии левой и правой сторон (Shinohara et al., 2012). Эти результаты свидетельствуют о высокой чувствительности системы, способной реагировать на слабый направленный поток.

У дрозофилы проявляется лево-правая асимметрия некоторых внутренних структур, включая кишечник и гениталии. Различия левой и пра-

вой сторон тела дрозофилы зависят от одной из моторных молекул немышечного миозина (Baum, 2006). Скрининг мутаций, влияющих на дефекты петли кишечника и расположения генитального диска, выявил связанный с актином мотор Myo31DF, в отсутствие которого эти структуры располагались на противоположной стороне (Baum, 2006). Из этих данных следует, что генетически детерминированная лево-правая асимметрия у Bilateria зависит от цепи событий, включающих у позвоночных и дрозофилы морфофункциональную асимметрию компонентов опорно-двигательной системы клеток.

Таким образом, повторяемые события в процессах сегментации (переносная симметрия) и ветвлении эпителиальных фрактальных систем организма (симметрия подобия) контролируются многократным, осциллирующим включением транскрипции регулирующих их генов или контуров генных сетей, представляя собой эффективный способ морфогенеза на основе относительно небольшой генетической программы.

Физические и топологические ограничения биологического морфогенеза

Помимо биологических закономерностей, определяющих направления и ограничения морфогенеза, неизбежны его физические и топологические ограничения (Bouligand, 1996; Isaeva et al., 2012). Один из примеров – механозависимость морфогенетических процессов, служащая существенным ограничением в развитии организма (Beloussov, 1998, 2012, 2015).

Гравитация вызывает появление различий между верхней и нижней, дорсальной и вентральной сторонами тела (Вейль, 2003; Гарднер, 2007). У подвижных животных неизбежно появляются особенности строения, отличающие переднюю сторону от задней. Переднезадняя ось соответствует направлению движения, с локализацией рта, мозга, глаз и других сенсорных органов в передней части, тогда как дорсо-вентральная ось ориентирована в соответствии с вектором гравитации, с обращенной к субстрату вентральной стороной (Minelli, 2003; Baguña et al., 2008; Manuel, 2009). Зеркально-симметричное расположение органов движения дает преимущества для прямолинейного движения, поэтому конечности подчиняются билатеральной симметрии более строго, чем внутренние органы (Вейль, 2003). Возможно, это объясняет вымирание древних билатерий со скользящей симметрией сегментации. Таким образом, для активного перемещения необходима векторизованность строения тела; ориентация основных осей организма соответствует симметрии физических полей и граничным условиям обитания на разделе физических фаз.

Полярность зародыша устанавливается и без внешних физических воздействий; в биологическом морфогенезе обычно наблюдается эндо-

генное возникновение новой симметрии (Beloussov, 2012, 2013). При определенных критических, неравновесных условиях действие физических факторов может становиться определяющим либо лимитирующим фактором. Такова роль гравитации в становлении дорсо-вентральной полярности у амфибий и птиц, воздействие градиента освещенности на поляризацию зиготы фукоидных водорослей (см. Исаева, 1994, 2005). Примером физического влияния, детерминирующего асимметрию правой и левой сторон тела позвоночных животных, служит направляемый биением ресничек векторизованный поток жидкости (см. выше). Такая зависимость осевой полярности зародыша от вектора физического воздействия демонстрирует импринтинг физических градиентов среды биологической системой.

Для интерпретации динамики трансформаций симметрии в эволюции и онтогенезе многоклеточных животных были применены концепции топологии (Isaeva et al., 2008, 2012; Presnov et al., 2010). На субклеточном, клеточном и надклеточном уровнях биологической организации гетерогенное распределение структурных компонентов, ионные потоки и генерируемые ими электрические поля, поля механических натяжений, направленного клеточного движения и т.д. проявляются как скалярные, векторные поля и поля направлений. Например, трансклеточные ионные потоки генерируют электрические поля на клеточном и тканевом уровнях; осевая полярность ооцита и яйца проявляется в виде трансклеточного ионного потока, генерирующего внеклеточное электрическое поле (Nuccitelli, 1984).

Дробление зиготы создает паттерн клеточных контактов на поверхности зародыша: на языке топологии это дискретное морфогенетическое поле с неизбежно присутствующими сингулярностями. Позиционная информация дискретного морфогенетического поля на поверхности дробящегося зародыша может быть описана математически как связь между локальным и интегральным порядком. Представленные подходы позволяют моделировать некоторые морфогенетические процессы.

Возникновение эпителиальных слоев обеспечило возможность дальнейших эпителиальных морфогенезов и преобразований топологической организации Metazoa, ведущих к усложнению морфологии и интенсификации жизнедеятельности (Isaeva et al., 2006, 2008, 2012). Эволюционные преобразования многоклеточных животных могут быть представлены как топологические модификации эпителиальной поверхности тела. В эволюции Metazoa мы находим несколько топологических трансформаций (Isaeva et al., 2006, 2008, 2012). Возникновение сквозного кишечника – топологическое преобразование важного эволюционного значения, давшее возможность векторизованной дифференциации кишечной трубки и лучшей утилизации питания из окружающей среды. Эпидермальный и кишечный эпителий, эпителий дыхательной системы,

целомической системы – пограничные ткани, отделяющие внутреннюю среду организма от наружной окружающей среды. Топологические трансформации поверхности тела в эволюции многоклеточных животных вели к увеличению площади эпителиальной поверхности, что оптимизировало распределение потоков, направленных из внешней среды в организм, и из организма во внешнюю среду, служащую источником питания и кислорода и стоком экскретов, и обеспечивало лучшую адаптацию организма к окружению.

Преобразования симметрии на клеточном уровне в ходе оогенеза и раннего развития определяют основные оси будущего организма, тогда как в последующем развитии масштаб преобразований симметрии уменьшается. Помимо таких классических форм симметрии, как поворотная (радиальная), зеркальная (билатеральная) и переносная (трансляционная), в морфогенезе проявляется масштабная симметрия (симметрия подобия, включающая план строения всего организма колониальных и некоторых радиально-симметричных животных и локальная симметрия у большинства Metazoa). Биологическая симметрия и другие варианты морфофункциональных повторов – эффективный способ морфогенеза с использованием повторения генетических программ.

В эволюции использованы многократные повторы генов, модулей генных сетей, генных кластеров и целых геномов. В индивидуальном развитии повторяются некоторые этапы морфогенеза (например, при сегментации, ветвлении дыхательной системы, морфогенезе желез и т.д.), при полиэмбрионии и бластогенезе повторяются также определенные стадии развития. Итерации – эффективный и рациональный способ умножения и последующей дивергенции удачных эволюционных находок, базирующийся на трансляционной симметрии. Симметрия, самоподобие (фрактальность), метамерия, полимеризация и другие варианты морфофункциональных повторов с многократным включением одинаковых генов или контуров генных сетей представляют собой повторный морфогенез с развитием множества подобных друг другу модулей и эффективный способ морфогенеза на основе относительно небольшой генетической программы. Отбор саморазвертывающихся модулей и способных к адаптивным изменениям систем ведет к возрастанию устойчивости, надежности, гибкости и пластичности, т.е. адаптируемости и способности эволюционировать (Исаева, 2012; Isaeva et al., 2012).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

АРОМОРФОЗЫ И ИДИОАДАПТАЦИИ В ЭВОЛЮЦИОННЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЯХ

Важнейшая роль в эволюции Metazoa принадлежит механизмам, детерминирующим план строения этих организмов, особенностям эволюционной стратегии в различных таксономических группах животных, а также клеточным ресурсам развития с участием стволовых клеток, в эволюционных преобразованиях индивидуального развития Bilateria основополагающую роль играют механизмы генетической регуляции и эпигенетического контроля, определяющие план строения этих животных. Фундаментальную функцию кодирования позиционной информации вдоль переднезадней оси и всего плана строения Bilateria выполняют *Hox*-гены (Duboule, 2007; Putnam et al., 2008; Ferrier, 2010; Nielsen, 2012; David, Mooi, 2014; Holland, 2015). Эти гены и порядок их пространственного расположения в *Hox*-кластере позволяют связать структурно-функциональные особенности *Hox*-системы с морфологией фенотипа и макроэволюционными изменениями плана строения животных. Появление этих генов на самых ранних этапах эволюции Metazoa рассматривается как один из главных ароморфозов, предопределивших дальнейшие эволюционные преобразования животных. Последующая дупликация *Hox*-генов в разные периоды эволюции способствовала крупным ароморфным изменениям в эволюционной линии, ведущей от низших хордовых к позвоночным, тогда как радикальные перестройки *Hox*-кластеров у Ecdysozoa, а также иглокожих и оболочников среди Deuterostomia коррелируют с изменениями их организации по типу идиоадаптаций.

В процессе эволюционных трансформаций происходит существенное изменение клеточных ресурсов развития. Значительные различия этих ресурсов наблюдаются уже в конце периода дробления эмбрионов первично- и вторичноротых животных (Иванов, 1937; Berrill, 1955, 1961; Ruppert, 1997). У зародышей беспозвоночных представителей хордовых отмечено относительно раннее наступление гаструляции и гистогенеза, тогда как у позвоночных эти процессы начинаются после прохождения большего числа делений дробления, что представляет собой проявление неотении (Berrill, 1955, 1961). Впоследствии Б. Холл (Hall, 1998, 2000, 2008), пересматривая теорию зародышевых листков и обоснованно полагая, что они подвержены интенсивным эволюционным изменениям, постулировал, что клеточный материал нервного гребня позвоночных представляет собой четвертый зародышевый листок. Развивая идеи Холла, кажется логичным в качестве четвертого зародышевого листка хор-

довых рассматривать всю нейральную пластинку вместе с прилегающим клеточным материалом будущего нервного гребня, именуя ее нейродермой (Исаева, 2015а, 2016; Isaeva, 2016). Появление нейродермы как четвертого зародышевого листка с последующим формированием полой нервной трубки – ароморфная эволюционная инновация в линии хордовых-позвоночных, обеспечившая возникновение огромного клеточного ресурса нейрогенеза и быструю эволюцию мозга.

Регулятивное развитие, типичное для хордовых и большинства Deuterostomia, коррелирует с «избыточностью» клеточного материала и возможностью селекции на клеточном уровне в пределах организма, что показано для нейробластов и иммунокомпетентных клеток позвоночных. Сохранение недифференцированного состояния и митотической активности эмбриональных и стволовых клеток со сдвигом цитодифференцировки на более поздние стадии онтогенеза – проявление локальной гетерохронии. Неоднократно отмечена фундаментальная важность большого размера организма для выживания и репродуктивного успеха животного, связь увеличения размера организма с возрастанием его сложности, развитием крупного мозга и увеличением длительности онтогенеза (Шмидт-Ниельсен, 1987; Williams, 1992; Bonner, 2000; Minelli, 2003). У многоклеточных с большими размерами тела и обилием тканей значительно шире возможности для «разнесения» экспрессии паралогичных генов во времени и пространстве (Колчанов, Суслов, 2006), что важно в связи с умножением числа *Hox*-кластеров у позвоночных. Развитие внутреннего скелета позвоночных в немалой мере сняло ограничения размеров тела и обеспечило возникновение сложного двигательного поведения; у млекопитающих, как известно, возникло плацентарное живорождение и репродуктивная стратегия с небывало высоким родительским вкладом в каждого потомка.

Альтернативная эволюционная направленность проявилась у организмов, претерпевших в ходе эволюции радикальные перестройки *Hox*-кластеров и характеризующихся малоклеточностью зародышей. В.Н. Беклемишев (1925) различал два альтернативных способа эмбриогенеза, путем эпителизации и путем малоклеточности; у большинства первичноротых животных наблюдается малоклеточное раннее развитие, способствующее пространственному распределению зачатков. Предполагается, что в эволюции Ecdysozoa, а также оболочников среди Chordata доминировал прогенез, коррелирующий с малыми размерами организма, коротким жизненным циклом, быстрым половым созреванием. Свойства экзоскелета Ecdysozoa, по-видимому, лимитировали размер его носителей и их головного мозга.

Разработанные критерии прогрессивной эволюции включают морфофункциональное усложнение организма, возрастание скорости метаболических процессов, повышение эффективности размножения и усиле-

ние заботы о потомстве, увеличение способности воспринимать сигналы внешней среды и реагировать на них (Huxley, 1932; Симпсон, 1948; Грант, 1980; Зотин, Криволуцкий, 1982; Озернюк, 1992, 2006; Por, 2003). Анализ эволюционных преобразований в контексте концепции репродуктивной стратегии (MacArthur, Wilson, 1967; Касьянов, 1989; Kasyanov, 2001) позволяет в определенной мере объяснить различную эволюционную стратегию в разных таксономических группах животных. Стратегия, включающая высокий родительский вклад в каждого потомка, связана с отбором на поддержание стабильности популяции и выживаемость малочисленного потомства. По мере исследований таких эволюционно значимых, связанных с развитием и размножением адаптивных признаков, как длительность развития и размеры животного, возраст наступления половой зрелости, плодовитость, родительский вклад в потомство, была расширена связь репродуктивной стратегии с эволюционной биологией (MacArthur, Wilson, 1967; Pianka, 1970; Ricklefs, 1973; Gould, 1977; Wilbur, 1980; Касьянов, 1989; Kasyanov, 2001; Reznick et al., 2002; Gunbin et al., 2011). В таком расширенном понимании представление о репродуктивной стратегии отличается от первоначальной концепции, базировавшейся на динамике численности популяций (MacArthur, Wilson, 1967) как процессов микроэволюции, становясь концепцией эволюционной стратегии.

Эволюционное восхождение в линии хордовых-позвоночных контрастирует с морфофункциональными преобразованиями у иглокожих – в пределах Deuterostomia, и оболочников – среди Chordata (Minelli, 2003; Seo et al., 2004; Ikuta et al., 2004; Duboule, 2007; Ikuta, 2011; David, Mooi, 2014); эволюционные изменения организации иглокожих и оболочников представляют собой идиоадаптации. Сопоставление организации *Hox*-кластеров и паттерна экспрессии *Hox*-генов с морфологией развивающегося организма дает возможность проследить возникновение макроэволюционных изменений морфогенеза и плана строения у Deuterostomia (David, Mooi, 2014). Хордовые предки позвоночных избежали избыточной специализации, потерь генных регуляторных систем и расширили свой эволюционный потенциал (Ruppert, 1997). Представители типа Chordata (за исключением оболочников), наращивая ресурсы клеточного материала, совершенствуя головной мозг и поведенческие реакции, реализовали эволюционное восхождение от низших хордовых к высшим позвоночным. Неотения в сочетании с пераморфозом коррелирует с отбором на выживаемость, увеличением ресурсов стволовых клеток и размерами тела, удлинением периода развития и всего онтогенеза и заботой о потомстве, что в итоге приводит к крупным ароморфным преобразованиям (Исаева, 2015а, 2016; Isaeva, 2016). Увеличение клеточных ресурсов развития, обеспечивая создание нового «морфопространства» (Gould, 2002), разнообразие и пластичность морфогенезов, увеличение

размеров организма, возникновение огромного клеточного ресурса нейрогенеза и быструю эволюцию мозга, играло ключевую роль в эволюции Metazoa, особенно в линии вторичноротых–хордовых–позвоночных. Альтернативные эволюционные изменения по типу идиоадаптаций проявились у организмов, утративших анцестральную организацию кластера *Hox*-генов и характеризующихся быстрым развитием, малоклеточностью зародышей, малыми размерами организма, коротким жизненным циклом, быстрым половым созреванием и, как правило, высокой плодовитостью. Следовательно, у представителей двух ветвей билатеральных животных, Deuterostomia и Ecdysozoa, весьма отчетливо выражены эволюционные приобретения и потери, в результате которых среди Deuterostomia выявляются и ароморфные преобразования, и идиоадаптации, тогда как у Ecdysozoa преобладают идиоадаптации.

Таким образом, интеграция современных данных эволюционной биологии развития, молекулярной генетики и современной геномики с классическими концепциями эволюции онтогенеза Metazoa дает новые возможности для понимания механизмов эволюционных преобразований индивидуального развития и эволюционной стратегии разных таксонов животного мира.

ЛИТЕРАТУРА

Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика. М.: Мир. 1988.

Айзенштадт Т.Б. Цитология оогенеза. М.: Наука.1984. 247 с.

Алексеева Т.А. Влияние температуры на потребление кислорода зародышами радужной форели // Онтогенез, 1987. Т. 18. С. 308-312.

Алексеева Т.А. Озернюк Н.Д. Энергетический обмен и температурный оптимум развития вьюна // Журн. общей биол. 1987. Т. 48. С. 525-531.

Алембеков И.Р., Кретова О.В., Гашникова Н.М. и др. Эффективность РНК-интерференции, вызываемой введением генетических конструкций, экспрессирующих siРНК, зависит от силы промотора // Мол. биология. 2009. Т. 43. № 2. С. 374-377.

Альберт Е. В., Ежова Т. А. Стволовые клетки побега растений – генетическая регуляция // Генетика. 2013. Т. 49. С. 149-163.

Андреева Т.Ф., Кулакова М.А. *Hox*-гены в индивидуальном развитии и эволюции билатеральных животных // Труды С-Петерб. Общ. Естествоисп. Серия 1. Том 97. Часть 1. 2008. С. 171-192.

Аравин А.А., Вагин В.В., Наумова Н.М. и др. Явление РНК-интерференции и развитие организма // Онтогенез. 2002. Т. 33. № 5. С. 349-360.

Арнольд В.И. Теория катастроф. М.: УРСС. 2004. 128 с.

Астауров Б.Л. Искусственный партеногенез у тутового шелкопряда (Экспериментальное исследование). М.-Л.: Изд-во АН СССР. 1940. 240 с.

Астауров Б.Л. Триплоидный искусственный партеногенз у тутового шелкопряда // ДАН СССР. 1948. Т. 61. № 2. С. 411-413.

Астауров Б.Л. Полиплоидия и партеногенез у тутового шелкопряда (*Bombyx mori*). 1. Получение триплоидного искусственного партеногенеза // Бюл. МОИП. отд. биол. 1955. Т. 60. вып. 2. С. 37-64.

Астауров Б.Л. Партеногенез, андрогенез и полиплоидия. М.: Наука. 1977. 343 с.

Астауров Б.Л. Верейская В.Н. Получение искусственного партеногенеза у триплоидных межвидовых гибридов шелковичного червя // ДАН СССР. 1960. Т. 131. № 6. С. 1426-1429.

Ахмадиева А.В., Шукалюк А.И., Александрова Я.Н., Исаева В.В. Стволовые клетки в бесполом размножении колониальной асцидии *Botryllus tuberatus* // Биол. моря. 2007. Т. 33. № 2.

Бабенко В.Н., Матвиенко В.Ф. Эффект супрессии р-элементов с маркерным геном *mini-white* в межгенных элементах *Drosophila melanogaster* // Цитология. 2013. № 3. С. 181-184.

Бакаленко Н.И., Новикова Е.Л., Кулакова М.А. Регуляторная эволюция, Нох-гены и личинки билатеральных животных // Извести РАН, серия биол. 2012. № 2. С. 249-256.

Барсков И.С. Об эволюции онтогенеза наружнораковинных цефалопод // Современные проблемы изучения головоногих моллюсков. Морфология, систематика, эволюция, экология и биостратиграфия. М.: ПИН РАН, 2012. Вып. 3. С. 29–34.

Батыгина Т.Б., Виноградова Г.Ю. Феномен полиэмбрионии. Генетическая гетерогенность семян // Онтогенез. 2007. Т. 38. С. 166-191.

Батыгина Т.Б., Исаева В.В. Системы стволовых клеток растений и животных – основа развития, выживания и репродукции организма. Эмбриология, генетика и биотехнология / Материалы V международной школы для молодых ученых. Санкт-Петербург: Изд-во «Левша» 2016. С. 40-41.

Батыгина Т.Б., Рудский И.В. Роль стволовых клеток в морфогенезе растений // Докл. Академии наук. 2006. Т. 410. С. 702-704.

Беклемишев В.Н. Морфологическая проблема животных структур. (К критике некоторых из основных понятий гистологии) // Изв. Биол. научно-исслед. Ин-та Пермского ун-та. 1925. Т. 3. Прилож. 1. С. 1-74.

Беклемишев В.Н. Основы сравнительной анатомии беспозвоночных. М.: Наука. 1964. Т. 1. 432 с.

Беклемишев В.Н. Методология систематики. М.: Товарищество научных изданий КМК. 1994. 254 с.

Белинцев Б.Н. Физические основы биологического формообразования. М.: Наука. 1991. 254 с.

Белоусов Л.В. Развитие представлений о биологических полях в работах А.Г. Гурвича. В кн: «Александр Гаврилович Гурвич». М.: Наука. 1970. С. 91-138.

Белоусов Л.В. Целостные и структурно-динамические подходы к онтогенезу // Журн. общ. биол. 1979. Т. 40. № 4. С. 514-529.

Белоусов Л.В. Биологический морфогенез. М.: Изд-во МГУ. 1987. 237 с.

Белоусов Л.В. Основы общей эмбриологии. М.: Изд-во МГУ и «Наука». 2005. 368 с.

Белоусов Л.В. Симметрийные преобразования в развитии организмов / Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии: симметрия и асимметрия. М.: ПИН РАН. 2013. С. 6–21.

Белоусов Л.В. Часы, осцилляции и задержки в морфогенезе / Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии: гетерохронии, гетеротопии и аллометрия. М. ПИН. 2014. С. 6-16.

Бердников В.А. Отбор на скорость эволюции как один из факторов, определяющих строение многоклеточных // Экол. генетика 2003. Т. 1. С. 59-66.

Бердышев Г.Д., Коротаев Г.К., Боярских Г.В., Ванюшин Б.Ф. Нуклеотидный состав ДНК и РНК соматических тканей горбуши и его изменение в течение нереста // Биохимия. 1967. Т. 32. С. 988-993.

Бирштейн В.Я. Цитологические и молекулярные аспекты эволюции позвоночных животных. М.: Наука. 1987. 284 с.

Боннер Дж. Молекулярная биология развития. М.: Мир. 1967.

Бочков Н.П. Вклад генетики в медицину. М.: Русский врач. 2001. С. 1-13.

Брага Э.А., Логинов В.И., Климов Е.А. и др. Активация транскрипции гена *RHOA* в эпителиальных опухолях может быть вызвана умножением копий гена и/или деметилированием его промоторной области // Мол. биология. 2006. Т. 40. № 5. С. 865-977.

Бреславец Л.П. Полиплоидия в природе и опыте. М.: Изд-во АН СССР. 1963. 259 С.

Бриан П. Бластогенез и гаметогенез / Происхождение и развитие половых клеток в онтогенезе позвоночных и некоторых групп беспозвоночных. Под ред. П.Г. Светлова. Л.: Медицина, 1968. С. 17–67.

Бродский В.Я. Трофика клетки. М.: Наука. 1966. 235 с.

Бродский В.Я., Урываева И.В. Клеточная полиплоидия, пролиферация и дифференцировка. М.: Наука. 1981. 259 с.

Бунур Л. Линия половых клеток у бесхвостых амфибий (*Anura*) // Происхождение и развитие половых клеток в онтогенезе позвоночных и некоторых групп беспозвоночных / Под ред. Светлова П.Г. Л.: Медицина, 1968. С. 186–215.

Бэр К.Э. Избранные работы. Перевод с предисловием и примечаниями Ю.А. Филипченко. ГИЗ: М.-П. 1924. 114 с.

Вавилов Н.И. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости / Тр. Всерос. съезда по селекции и семеноводству в г. Саратов. 1920. Вып. 1. С. 41-56.
Вайнштейн Б.К., Куранова И.П., Арутюнян Э.Г., Егоров Ц.А. Леггемоглобин II желтого люпина. Особенности его структуры в сравнении с миоглобином кашалота // Биоорг. химия. 1980. Т. 6. №5. 683-699.
Ванюшин Б.Ф. Материализация эпигенетики, или небольшие изменения с большими последствиями // Химия и жизнь. 2004. № 2. С. 32-37.
Ванюшин Б.Ф. Метилирование ДНК и эпигенетика // Генетика. 2006. Т. 42. № 9.С. 1186-1199.
Ванюшин Б.Ф. Метилирование ДНК у растений. Механизмы и биологическая роль.: М. Наука. 2009. 77 с.
Ванюшин Б.Ф., Тушмалова Н.А., Гуськова Л.В. Метилированите ДНК мозга как показатель участия генома в механизмах индивидуального приобретения памяти // Докл. Акад. наук СССР. 1974. Т. 219. С. 742-744.
Ванюшин Б.Ф., Тушмалова Н.А., Гуськова Л.В. и др. Изменение уровня метилирования ДНК головного мозга крыс при выработке условного рефлекса // Молек. биол. 1977. Т. 11. С. 181-187.
Васильев В.П. Эволюционная кариология рыб. М.: Наука. 1985. 300 с.
Васильев Ю.М. Социальное поведение нормальных клеток и антисоциальное поведение опухолевых клеток // Соросовский образоват. журнал. 1997. № 5. С. 20-25.
Васильев Ю.М. Реорганизация цитоскелета – основа морфогенеза // Онтогенез. 2007. Т. 38. № 2. С. 120-125.
Васильев Ю.М., Гельфанд И.М. Взаимодействие нормальных и неопластических клеток со средой. М.: Наука. 1981. 220 с.
Васильев Ю.М., Гельфанд И.М. Поисковые миграции клеток в нормальном развитии и в канцерогенезе // Биохимия. 2006. Т. 71. № 8. С. 1030-1020.
Вейль Г. Симметрия. М.: УРСС. 2003. 192 с.
Воробьева Э. И. Современная эволюционная биология развития: механический и молекулярно-генетический или фенотипический подходы // Онтогенез. 2010а. Т. 41. № 5. С. 332–339.
Воробьева Э. И. Evo-devo и концепция эволюции онтогенеза И.И. Шмальгаузена // Известия РАН. серия биол. 2010б. № 2. С. 141-148.
Воронежская Е. Е., Хабарова М. Ю. Функция апикального органа в развитии беспозвоночных // Докл. Акад. наук. 2003. № 390. С. 231-234.
Гарднер М. Этот правый, левый мир. М.: Комкнига, 2007. 272 с.
Гвоздев В.А. Регуляция активности генов, обусловленная химической модификацией (метилированием) ДНК // Соросовский образовательный журнал. 1999. № 10. С. 11-17.
Гвоздев В.А. Мобильные гены и явление РНК-интерференции // Генетика. 2003. Т. 39. С. 151-156.
Гвоздев В.А., Флаторцев В.Е., Аравин А.А. и др. Гетерохроматин: молекулярная эволюция и эффекты положения генов у *Drosophila melanogaster* // Мол. биология. 1999. Т. 33. С. 14-25.
Гершензон С.М. Основы современной генетики. Киев: Наукова думка. 1991.
Гилберт С.Ф. Биология развития. 2010. 7-е издание. Изд-во «Информ-Планета», «Политехника». 828 С.
Гилберт С.Ф., Опиц Д.М., Рэф Р.А. Новый синтез эволюционной биологии и биологии развития // Онтогенез. 1997. Т. 28. № 5. С. 325-343.

Гиляров М.С. Современные представления о гомологии //Успехи совр. биол. 1964. Т. 57. № 2.

Грант В. Эволюция организмов. М.: Мир. 1980. 408с.

Григорян Э.Н. Факторы компетенции клеток ретинального пигментного эпителия для репрограммирования в нейральном направлении при регенернации сетчатки у тритона // Известия РАН, серия биол. 2015. № 1. С. 5-16.

Гунбин К.В., Суслов В.В., Колчанов Н.А. Ароморфозы и адаптивная молекулярная эволюция // Вестник ВОГиС. 2007. Т. 11. № 2. С. 373-399.

Гунбин К.В., Суслов В.В., Колчанов Н.А. Молекулярно-генетические системы развития: динамика функционирования и молекулярная эволюция // Биохимия. 2008. Т. 73. № 2. С. 270-282.

Гурвич А.Г. Теория биологического поля. М.: Сов. Наука. 1944. 156 с.

Гуськова Л.В., Бурцева Н.Н., Тушмалова Н.А., Ванюшин Б.Ф. Уровень метилирования ДНК ядер нейронов и глии коры больших полушарий мозга крыс и его изменения при выработке условного рефлекса // Докл. Акад. наук СССР. 1977. Т. 233. С. 993-996.

Даниленко А.Н., Персиков А.В., Полосухина Е.С., Клячко О.С., Озернюк Н.Д. Текрмодинамические свойства лактатдегидрогеназы из мышц рыб *Misgurnus fossilis*, адаптированных к разным температурам среды // Биофизика.1998. Т. 43. № 1. С. 26-30.

Детлаф Т.А. Температурно-временные закономерности развития пойкилотермных житвотных. М.: Наука. 2001. 211 с.

Детлаф Т.А., Детлаф А.А. О безразмерных характеристиках продолжительности развития в эмбриологии // Докл. АН СССР. 1960. Т. 134. С. 199-202.

Джан Р.В. Филлотаксис: системное исследование морфогенеза растений. Москва-Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований. 2006. 464 с.

Догель В.А. Олигомеризация гомологичных органов как один из главных путей эволюции животных. Л.: Изд-во ЛГУ. 1954. 368 с.

Догель В.А. Обшая паразитология. Ленинград. 1962. 464 с.

Догель В.А. Онтогенез и филогенез у животных // Природа. 1928. № 1. С. 63-78.

Докинз Р. Расширенный фенотип: длинная рука гена. М.: Астрель: CORPUS. 2011. 512 с.

Докинз Р. Самое грандиозное шоу на Земле: доказательства эволюции. М.: Астрель. CORPUS. 2013. 496 с.

Дондуа А.К. Биология развития. Санкт-Петербург: Изд-во СпбГУ.Т. 1. 2004. Т. 2. 2005.

Дондуа А.К. Сравнительно-эмбриологический очерк особенностей клеточных циклов в раннем развитии животных. В книге: Клеточное размножение и процессы дифференциации. Л.: Наука. 1983. С. 22-54.

Дондуа А.К. Теория зародышевых листков: дискуссионные аспекты // Онтогенез. 1994. Т. 25. № 6. С. 69-76.

Дубинин Н.П., Сидоров Б.Н. Эффект положения гена *hairy* // Биол. журнал. 1935. Т. 4. № 3. С. 555-563.

Дьюкар Э. Клеточные взаимодействия в развитии животных. М.: Мир. 1978. 330 с.

Дэвидсон Э. Действие генов в раннем развитии. М.: Мир. 1972. 342 с.

Емельянов А.Ф., Расницын А.П. Систематика, филогения, кладистика // Природа. 1991. № 7. С. 26–37.

Жерихин В.В., Пономаренко А.Г., Расницын А.П. Введение в палеоэнтомологию. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2008. 371 с.
Жимулев И.Ф. Гетерохроматин и эффект положения гена. Новосибирск. Наука. 1993. 490 с.
Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск. Изд-во Новосибирского ун-та. 2002. 458 с.
Жимулев И.Ф. Явление эффекта положения и исследования В.В. Хвостовой. В кн.: «Эффект положения гена в исследованиях В.В. Хвостовой» Новосибирск. Изд-во Ин-та цитологии и генетики СО РАН. 1992. С. 5-22.
Заренков Н.А. 2009. Биосимметрика. М.: ЛИБРОКОМ. 320 с.
Захаров В.М. Асимметрия животных: популяционно-фенетический подход. М.: Наука. 1987. 216 с.
Захаров-Гезехус И.А. Проблема гомологии в эволюционной биологии. М.: РИИС ФИАН. 2008. 128 с.
Зиничев В.В., Зотин А.И. Зависимость суммарного потребления кислорода от температуры на разных стадиях развития тихоокеанской кеты // Онтогенез. 1988а. Т. 19. С. 217-220.
Зиничев В.В., Зотин А.И. Избираемая температура и оптимум развития у предличинок и личинок кеты *Oncorhynchus keta* // Вопр. ихтиологии. 1988б. Т. 28. С. 164-166.
Зитте П., Вайлер Э.В., Кадерайт Й.В. и др. Ботаника. М.: Академия. 2007. Т.3.
Зотин А.И. Озернюк Н.Д. Влияние температуры на дыхание и уровень АТФ в период дробления яиц вьюна // Докл. АН СССР. 1966. Т. 171. С.1002-1004.
Зотин А.И., Криволуцкий Д.А. Скорость и направление эволюционного прогресса организмов // Журн. общ. биол. 1982. Т. 43. № 1. С. 3-13.
Зотин А.И., Зотин А.А. Направление, скорость и механизмы прогрессивной эволюции. М.: Наука. 1999. 319 с.
Иванов П.П. Общая и сравнительная эмбриология. М.-Л.: 1937. 809 с.
Иванов А.В. Эволюция и система целомических животных // Ж. общ. биол. 1983. Т. 44. С. 1-9.
Иванова-Казас О.М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Простейшие и низшие многоклеточные. Новосибирск, Наука. 1975. 372 с.
Иванова-Казас О.М. Бесполое размножение животных. Л.: Изд-во Ленинградского ун-та. 1977. 240 с.
Иванова-Казас О.М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Иглокожие и полухордовые. М.: Наука. 1978. 168 с.
Иванова-Казас О.М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Членистоногие. М., Наука. 1979. 224 с.
Иванова-Казас О.М. Эволюционная эмбриология животных. С.-Петербург: Наука. 1995. 566 с.
Иванова-Казас О.М. Бластогенез, кормогенез и эволюция // Биол. моря. 1996. Т. 22. № 5. С. 285-294.
Иванова-Казас О.М. Стратегия, тактика и эволюция онтогенеза // Онтогенез. 1997. Т. 28. С. 31-40.
Иванова-Казас О.М. Происхождение членистоногих и клад Ecdysozoa // Онтогенез. 2013а. № 5. С. 303-315.
Иванова-Казас О.М. Установки развития и проблемы “evo-devo” // Санкт-Петербург: Санкт-Петербургское общество естествоиспытателей. 2013б. С. 124-129.

Иванова-Казас О.М. Молекулы, морфология и филогения / Тезисы конф. «Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии: устойчивость и вариабельность». М.: ПИН. 2015а. С. 17-20.
Иванова-Казас О.М. Вторичный рот и его эволюционное значение // Биология моря. 2015б. Т. 41. № 2. С. 81-91.
Иванцов А.Ю. Проартикуляты – вымерший в докембрии тип многоклеточных животных // Эволюционная морфология животных. К столетию со дня рождения академика А.В. Иванова. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ. 2008. С. 32-42.
Игнатьева Г.М. Ранний эмбриогенез рыб и амфибий. М.: Наука. 1979. 175 с.
Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М. Высшая школа. 1989. 157 а.
Инге-Вечтомов С.Г. Прионы дрожжей и Центральная догма молекулярной биологии // Вестник РАН. 2000. Т. 70. № 3. С. 195-202.
Инге-Вечтомов С.Г. Матричный принцип в биологии // Экол. генетика. 2003. Т. VI. С. 4-13.
Инге-Вечтомов С.Г. Матричный принцип в биологии (прошлое, настоящее, будущее?) // Экол. генетика. 2003. Т. 1. С. 6-15.
Инге-Вечтомов С.Г. Блочный принцип в теории эволюции. Перспективы и парадоксы // Фундаментальные зоологические явления. М., СПб: Товарищество научных изданий КМК. 2004. С. 74-87.
Инге-Вечтомов С.Г., Борхсениус А.С., Задорский С.П. Белковая наследственность: Конформационные матрицы и эпигенетика // Вестник ВОГиС. 2004. Т.8. № 2. С. 60-66.
Иржак Л.И. Гемоглобины и их свойства. М.: Наука. 1975. 240 с.
Исаев Д.А., Заева В.В., Болт А.И. и др. Вспомогательная репродукция человека и болезни геномного импринтинга // Проблемы репродукции. 2000. № 2. С. 14-18.
Исаева В.В. Нарушение поляризации зигот бурой водоросли *Pelvetia wrightii*: эффект цитохалазина // Онтогенез. 1990. Т. 21. С. 422-428.
Исаева В.В. Клетки в морфогенезе. М.: Наука. 1994. 224 с.
Исаева В.В. Синергетика для биологов. Вводный курс. М.: Наука. 2005. 158 с.
Исаева В.В. Фрактальные и хаотические паттерны животных // Труды Зоологического института РАН. Приложение № 1 (Вид и видообразование. Анализ новых взглядов и тенденций. Ред. А.Ф. Алимов, С.Д. Степаньянц. Санкт-Петербург. 2009. С. 199-218.
Исаева В.В. Разнообразие онтогенезов у животных с бесполым размножением и пластичность раннего развития. Онтогенез. 2010. Т. 41. № 5. С. 340-352.
Исаева В.В. Самоорганизация в биологических системах // Известия РАН. Сер. биол. 2012. № 2. С. 144-153.
Исаева В.В. Преобразования симметрии в онтогенезе и эволюции / Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии: симметрия и асимметрия. М.: ПИН РАН. 2013. С. 22–43.
Исаева В.В. Эволюционные приобретения и потери // Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии: устойчивость и вариабельность. М.: ПИН РАН. 2015а. С. 13-27.
Исаева В.В. Моделирование и анализ морфогенеза Metazoa на основе концепций топологии и фрактальной геометрии // Вестник ДВО РАН. 2015б. № 1. С. 5-13.
Исаева В.В. Модулярность развития: гетерохронии и гетеротопии в эволюционных преобразованиях / Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии: гетерохронии, гетеротопии и аллометрия. М.: ПИН. 2014. С. 33-48.

Исаева В.В. Палеонтология и эволюционная биология развития / 100-летие Палеонтологического общества России. Проблемы и перспективы палеонтологических исследований. Материалы LXII сессии Палеонтологического общества. Санкт-Петербург: Изд-во ВСЕГЕИ. 2016. С. 77-79.

Исаева В.В., Преснов Е.В. Топологическое строение морфогенетических полей. М.: Наука, 1990. 256 с.

Исаева В.В., Шукалюк А.И., Кизилова Е.А. Выявление стволовых клеток в колониальной интерне корнеголовых ракообразных Peltogasterella gracilis и Sacculina polygenea на паразитической стадии жизненного цикла // Цитология. 2003. Т. 45. С. 758-763.

Исаева В.В., Каретин Ю.А., Чернышев А.В., Шкуратов Д.Ю. Фракталы и хаос в биологическом морфогенезе. Владивосток. Дальнаука. 2004. 162 с.

Исаева В.В., Пущина Е.В., Каретин Ю.А. Изменение морфометрических показателей и фрактальной размерности нейронов спинного мозга в онтогенезе симы *Oncorhynchus masou* // Биол. моря. 2006. Т. 32. С. 125-133.

Исаева В.В., Шукалюк А.И. Колониальные корнеголовые ракообразные (Crustacea: Rhizocephala): бесполое размножение, стволовые клетки, репродуктивная стратегия. Москва: Наука. 2007. 132 с.

Исаева В.В., Шукалюк А.И., Ахмадиева А.В. Стволовые клетки беспозвоночных животных с репродуктивной стратегией, включающей бесполое размножение // Биол. моря. 2007. Т. 33. № 1. С. 3-10.

Исаева В.В., Шукалюк А.И., Ахмадиева А.В. Бесполое размножение и репродуктивная стратегия колониальных представителей корнеголовых ракообразных (Cirripedia: Rhizocephala) // Зоол. журн. 2008. Т. 87. № 3. С. 268-279.

Исаева В.В., Ахмадиева А.В, Александрова Я.Н., Шукалюк А.И. Морфофункциональная организация стволовых резервных клеток, обеспечивающих бесполое и половое размножение беспозвоночных животных // Онтогенез. 2009. Т. 40. № 2. С. 83-96.

Исаева В.В., Батыгина Т.Б. Сходство и различия стволовых клеток растений и животных / Материалы Международной конференции «Биология развития: морфогенез репродуктивных структур и роль стволовых клеток в онтогенезе и эволюции». М.: Товарищество научных изданий КМК. 2010. С. 64-65.

Исаева В.В., Ахмадиева А.В. Герминальные гранулы в археоцитах губки *Oscarella malakhovi* Ereskovsky, 2006 // Биол. моря. 2011. Т. 37. № 3. С. 199-207.

Исаева В.В., Ахмадиева А.В, Александрова Я.Н., Шукалюк А.И., Чернышев А.В. Герминальные гранулы интерстициальных клеток колониальных гидроидов *Obelia longissima* Pallas, 1766 и *Ectopleura crocea* Agassiz, 1862 // Биол. моря. 2011. Т. 37. № 4. С. 292-299.

Исаева В.В., Озернюк Н.Д., Рожнов С.В. Свидетельства эволюционных изменений онтогенеза: палеонтологические, сравнительно-морфологические и молекулярные аспекты // Известия РАН. серия биол. 2013. № 3. С. 273–283.

Камшилов М.М. Фенотип и генотип в эволюции // Проблемы эволюции. Ред. Воронцов Н.Н. Новосибирск: Наука. 1972. С. 28-44.

Карпеченко Г.Д. Тетраплоидные ячмени, полученные действием высокой температуры // Биол. журнал. 1938. Т.7. №2. 287-294.

Карпинский А.П. Об аммонеях Артинского яруса и о некоторых сходных с ними каменноугольных формах. СПб: типогр. А. Якобсона. 1890. 192 с.

Карпов В.Л. От чего зависит судьба гена // Природа. 2005. № 3.

Касьянов В.Л. Возникновение близнецовых уродств при центрифугировании оплодотворенных яйцеклеток травяной лягушки до дробления // Докл. АН СССР. 1968. Т. 180. С. 1008-1011.

Касьянов В.Л. Репродуктивная стратегия морских двустворчатых моллюсков и иглокожих. Л.: Наука. 1989. 179 с.

Касьянов В.Л., Корн О.М., Рыбаков А.В. Репродуктивная стратегия усоногих ракообразных. 1. Половой диморфизм, репродуктивная система, гаметогенез // Биол. моря. 1997. Т. 23. С. 263-274.

Кирнос М.Д., Александрушкина Н.Т., Ванюшин Б.Ф. Ингибирование и изменение специфичности метилирования фрагментов Оказаки в проростках пшеницы под влиянием 5-азацитидина или S-изобутиладенозина // Биохимия. 1988а. Т. 53 (10). С. 1667-1676.

Кирнос М.Д., Александрушкина Н.Т., Кутуева Л.И. и др. Репликативное и пострепликативное метилирование ядерной ДНК моделирует асимметрию ее комплементарных цепей по содержанию остатков 5-метилцитозина в нескольких последовательных клеточных циклах клеток первого листа проростков пшеницы // Биохимия. 1988б. Т. 53(3). С. 355-367.

Киселева Н.П., Киселев Ф.Л. Деметилирование ДНК и канцерогенез // Биохимия. 2005. Т. 70. С. 900-911.

Кленов М.С., Гвоздев В.А. Формирование гетерохроматина: Роль коротких РНК и метилирования ДНК // Биохимия. 2005. Т. 70. вып. 11. С. 1445-1458.

Кленов М.С., Столяренко А.Д., Рязанский С.С. и др. Роль коротких РНК в регуляции экспрессии генов и мобильных элементов в герминативных клетках // Онтогенез. 2007. Т. 38. №3. С. 213-227.

Клячко О.С., Полосухина Е.С., Персиков А.В., Озернюк Н.Д. Кинетические различия лактатдегидрогеназы из мышц рыб при температурной адаптации // Биофизика. 1995. Т. 40. С. 513-517.

Колчанов Н.А., Суслов В.В., Гунбин К.В. Моделирование биологической эволюции: регуляторные генетические системы и кодирование сложности биологической организации // Вестник ВОГиС. 2004. Т. 8. №2. С. 86-99.

Колчанов Н.А., Суслов В.В. Кодирование и эволюция сложности биологической организации // Эволюция биосферы и биоразнообразия. К 70-летию А.Ю. Розанова. Ред. В.С. Рожнов. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2006. С. 60-96.

Кольцов Н.К. Проблемы биологии // Социалистическая реконструкция и наука. 1932. Вып. 9-10. С.41

Кольцов Н.К. Наследственные молекулы // Наука и жизнь. 1935а. вып. 5, вып. 6.

Кольцов Н.К. Роль гена в физиологии развития // Биол. журнал. 1935б. Т. 4. С. 771-779.

Конюхов Б.В., Платонов Е.С. Геномный импринтинг у млекопитающих // Генетика. 2001. Т. 37. № 1. С. 5-17.

Корниенко Е.С. Роющие раки инфраотрядов Gebiidea и Axiidea (Crustacea: Decapoda // Биол. моря. 2013. Т. 39. № 1. С. 3-16.

Короткова Г.П. Происхождение и эволюция онтогенеза. Ленинград: Изд-во ЛГУ. 1979. 296 с.

Корочкин Л.И. Введение в генетику развития. М.: Наука. 1999. 253 с.

Корочкин Л.И. Биология индивидуального развития. М.: Изд-во Московского ун-та. 2002а. 263 с.

Корочкин Л.И. Онтогенез, эволюция и гены // Природа. 2002б. № 7. С. 10-19.

Корчагина Н.М., Бакаленко Н.И., Кулакова М.А. *Hox*-кластер и эволюция морфогенезов // Онтогенез. 2010. Т. 41. № 5. С. 353-363.
Коряков Д.Е. Модификации гистонов и регуляция работы хроматина // Генетика. 2006. Т. 42. № 9. С. 1170-1185.
Красилов В.А. Нерешенные проблемы теории эволюции. Владивосток: ДВНЦ АН СССР. 1984. 140 с.
Кузьмичева Е.И. Морфология скелета, система и эволюция склерактиний.М.: Наука, 2002. 212 с.
Кулакова М. А., Бакаленко Н. И., Новикова Е.Л. Гетеротопии и гетерохронии программ развития под контролем кластерных гомеобокс-содержащих генов // Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии: гетерохронии, гетеротопии и аллометрия. М.: ПИН. 2014. С. 17-32.
Кэри Н. Эпигенетика: Как современная биология переписывает наши представления о генетике, заболеваниях и наследственности. Ростов: Феникс. 2012. 349 с.
Кэрролл Ш. Приспособиться и выжить! ДНК как летопись эволюции. М.: Изд-во АСТ. 2015. 382 с.
Леонова Т.Б. Онтофилогенетические исследования палеозойских аммоноидей // Изв. РАН. Сер. биол. 2012. № 2. С. 237-248.
Лима-де-Фариа А. Похвала «глупости» хромосомы. Исповедь непокорной молекулы. М.: БИНОМ. 2012. 312 с.
Логинов В.И., Ходырев Д.С., Пронина И.В. и др. Метилирование промоторной области гена RASSF1A и частота аллельных дисбалансов в критичных районах хромосомы 3 коррелирует с прогрессией светлоклеточного рака почки // Мол. биология. 2009. Т. 43. С. 436-445.
Майр Э. Принципы зоологической систематики. М. Мир. 1971. 454 С.
Малахов В.В. Происхождение билатерально-симметричных животных (Bilateria) // Журн. общ. биологии. 2004. Т. 65. № 5. С. 371–388.
Малинецкий Г.Г. Хаос. Структуры. Вычислительный эксперимент. Введение в нелинейную динамику. М.: Наука. 1997. 254 с.
Мамкаев Ю.В. Филогенетическое значение онтогенезов (рекапитуляция и формообразование) // Известия РАН. серия биол. 2009. № 2. С. 134-142.
Мамкаев Ю.В. Эволюционное значение морфогенетических механизмов // Биология моря. 2004. Т. 30. № 6. С. 415-422.
Марков А. Рождение сложности. Эволюционная биология сегодня: неожиданные открытия и новые вопросы. М.: Астрель: CORPUS. 2010. 527 с.
Марков А. Эволюция человека. I. Обезьяны, кости и гены. М.: Астрель: CORPUS. 2011а. 464 с.
Марков А. Эволюция человека. II. Обезьяны, нейроны и душа. М.: Астрель: CORPUS. 2011б. 512 с.
Марков А., Найман Е. Эволюция. Классические идеи в свете новых открытий. М.: Астрель: CORPUS. 2014. 656 с.
Мартынов А.В. От онтогенеза к эволюции: систематика в ожидании смены парадигмы. В кн.: Эволюция и систематика: Ламарк и Дарвин в современных исследованиях. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2009. С. 143-229.
Мартынов А.В. Онтогенетическая систематика и новая модель эволюции Bilateria. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2011. 286 с.
Марфенин Н.Н. Концепция модульной организации в биологии // Журн. общей биол. 1999. Т.60. № 1. С. 6-17.

Марфенин Н.Н. Фундаментальные закономерности модульной организмации в биологии // Вестник ТвГУ. серия «Биология и экология». 2008. вып. 9. С. 147-161.
Маршак Т.Л., Строева О.Г. Цитофотометрическое исследование содержания ДНК в клетках пигментного эпителия сетчатки крыс в постнатальном онтогенезе // Онтогенез. 1973. Т. 3. С. 516-520.
Маршак Т.Л., Строева О.Г., Бродский В.Я. Специализация одноядерных и двуядерных клеток пигментного эпителия сетчатки крыс в раннем постнатальном развитии // Журн. общей биол. 1976. Т. 37. С. 608-614.
Миташов В.И. Экспрессия регуляторных и тканеспецифических генов, кодирующих регенерационные потенции тканей глаза позвоночных // Онтогенез. 2007. Т. 38. № 4. С. 244-253.
Морган Т.Г. Экспериментальные основы эволюции. М.; Л. Биомедгизю 1936. 124 С.
Мюге Н.С., Озернюк Н.Д. Сравнительный анализ структуры легких цепей миозина у рыб и роль дупликации генов // Изв. РАН. Серия биол. 2006. № 1. С. 38-43.
Мюге Н.С., Тихонов А.В., Озернюк Н.Д. Онтогенетический и межвидовой анализ структуры легких цепей миозина из скелетных мышц вьюна // Изв. РАН. Серия биол. 2005. № 5. С. 573-577.
Нарейко В.Г. Изоформы миозина развивающихся скелетных мышц вьюна // Онтогенез. 1988. Т. 19. С. 601-606.
Нарейко В.Г., Озернюк Н.Д. Различия состава сократительных белков красных и белых скелетных мышц костистых рыб // Докл. АН СССР. 1988. Т. 298. С. 1022-1024.
Нельсон Дж.С. Рыбы мировой фауны. М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ». 2006. 880 с.
Никитин Н.С. Формообразовательные потенции конгломератов ядрышковых амебоцитов пресноводной губки Ephydatia fluviatilis L. в зависимости от их размера / Морфогенетические процессы при разных типах размножения и в ходе регуляций. Ред. Б.П. Токин. Л.: Изд-во ЛГУ. 1974. С. 134-142.
Никитин Н.С. Формообразовательные потенции конгломератов ядрышковых амебоцитов пресноводной губки *Ephydatia fluviatilis* L. в зависимости от их размера / Морфогенетические процессы при разных типах размножения и в ходе регуляций. Ред. Б.П. Токин. Л.: Изд-тво ЛГУ. 1974. С. 134-142.
Николис Г., Пригожин И. Самоорганизация в неравновесных системах. М.: Мир. 1979. 512 с.
Новикова Е.Л. Закономерности экспрессии Hox-генов в процессе регенерации многощетинкового червя *Alitta virens* (Polychaeta, Annelida). Диссертация на соискание кандидата биол. наук. Санкт-Петербург: СПбГУ. 2014. 149 с.
Озернюк Н.Д. Рост и воспроизведение митохондрий. М.: Наука. 1978. 263 с.
Озернюк Н.Д. Энергетический обмен в раннем онтогенезе рыб. М.: Наука. 1985. 175 с.
Озернюк Н.Д. Принцип энергетического минимума в онтогенезе и устойчивость процессов развития // Журн. общ. биол. 1988. Т. 49. С. 552-562.
Озернюк Н.Д. Принципы минимизации метаболизма и оптимальные условия развития видов // Известия РАН. Серия биол. 1993. № 1. С. 8-15.
Озернюк Н.Д. Регуляция миогенеза. Известия РАН. Серия биол. 1998. №3. С. 330-343.
Озернюк Н.Д. Температурные адаптации. М.: Изд-во МГУ. 2000а. 205 с.
Озернюк Н.Д. Биоэнергетика онтогенеза. М.: Изд-во МГУ. 2000б. 264 с.
Озернюк Н.Д. Феноменология и механизмы адаптационных процессов. М.: Изд-во МГУ. 2003. 215 с.

Озернюк Н.Д. Онтогенетические температурные адаптации ферментов пойкилотермных животных // Успехи совр. биол. 2004а. Т. 124. С. 534-541.
Озернюк Н.Д. Сравнительные особенности миогенеза у беспозвоночных, низших и высших позвоночных животных // Онтогенез. 2004б. Т.35. с.441-450.
Озернюк Н.Д. Экологическая энергетика животных. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2006. 167 с.
Озернюк Н.Д Соотношение онтогенетических и эволюционных процессов в свете достижений современной генетики: роль дупликации генов // Известия РАН. Серия биол. 2010а. № 2. С. 134-140.
Озернюк Н.Д. Разнообразие онтогенезов: иерархия механизмов // Онтогенез. 2010б. Т. 41. С. 323-324.
Озернюк Н.Д. Ранний онтогенез рыб и промысловых беспозвоночных как проблема биологии развития // Онтогенез. 2011. Т. 42. С. 163-164.
Озернюк Н.К. Научная школа Н.К. Кольцова. Ученики и соратники. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2012. 360 с.
Озернюк Н.Д. Гетерохронии и эволюционные новшества – модулярность, морфогенентические поля действия генов, молекулярные механизмы // Морфогенез: гетерохронии, гетеротопии и аллометрия. М.: ПИН РАН. 2014. С. 49-60.
Озернюк Н.Д., Пальмбах Л.Р. Рост и воспроизведение митохондрий в ооцитах вьюна // Онтогенез. 1975. Т. 6. С. 442-449.
Озернюк Н.Д., Прокофьев Е.А. Влияние температуры на энергетический обмен тиляпий в связи с определением температурного оптимума у эктотермных животных // Докл. АН СССР. 1989. Т. 306. С. 1512-1514.
Озернюк Н.Д., Нарейко В.Г., Смирнова Ю.А., Зиновьева Р.Д. Особенности дифференцировки скелетной мускулатуры у рыб: молекулярно-биологические подходы // Известия РАН. Серия биол. 2004. № 3. С. 261-268.
Озернюк Н.Д., Балан О.В. Биология сателлитных клеток мышц и механизмы восстановления мышечной системы / Биология стволовых клеток и клеточные технологию Под ред. Пальцева М.А. М.: Медицина, Шико. 2009. Т. 2. С. 36-52.
Озернюк Н.Д., Мюге Н.С. Эволюционные закономерности гомологии регуляторных генов миогенеза // Известия РАН. Серия биол. 2012. № 4. С. 383-390.
Озернюк Н.Д., Мюге Н.С Крупномасштабные дупликации генов и дивергенция паралогичных генов на примере рыб // Генетика. 2013. Т. 49. вып.1 с. 73-80.
Оленов Ю.М. Клеточная наследственность, дифференциация клеток и канцерогенез. Л.: Наука. 1967. 309 с.
Оно С. Генетические механизмы прогрессивной эволюции. М., Мир. 1973. 227 С.
Осипов С.А., Преображенская О.В., Карпов В.Л. Структура хроматина и регуляция транскрипции у *Saccharomyces cerevisiae* // Мол. биология. 2010. Т. 44. № 6. С. 966-979.
Пальмбах Л.Р., Озернюк Н.Д. Рост и воспроизведение митохондрий в ооцитах вьюна // Онтогенез. 1975. Т.6. С. 442-449.
Пасюкова Е.Г., Нуждин С.В., Филатов Д.А. и др. Ретротранспозон – геном хозяина: механизмы и эффекты взаимодействия // Мол. биология. 1999. Т. 33. № 1. С. 26-37.
Персиков А.В., Даниленко А.Н., Клячко О.С., Озернюк Н.Д. Сравнительное изучение конформационной стабильности лактатдегидрогеназы из мышц вьюнов, адаптированных к разным температурам среды, по данным диффернциальной сканирующей микрокалориметрии // Биофизика. 1998. Т. 43. № 6.

Платонов Е.С., Исаев Д.А. Геномный импринтинг в эпигенетике млекопитающих // Генетика. 2006. Т. 42. № 9. С. 1235-1249.
Полянский Ю.И., Райков И.Б. Роль полиплоидии в эволюции простейших // Цитология. 1960. Т. 2. № 5. С. 509-518.
Пономаренко А.Г. Ранние этапы эволюции членистоногих // Эволюционная морфология животных. К столетию со дня рождения академика А.В. Иванова. Санкт-Петербург: Изд-во СПбГУ. 2008. С. 43-57.
Пономаренко А.Г. Морфогенез насекомых: взгляд палеонтолога // Конференция «Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии». Тезисы. Москва. 2011.С. 39-40.
Пригожин И., Стенгерс И. Порядок из хаоса. М.: Прогресс. 1986. 431 с.
Пуляхина И.В., Озернюк Н.Д. Лактатдегидрогеназа из мышц тетраплоидного вида рыб вьюна *Misgurnus fossilis*: выявление структурных различий двух форм фермента методами молекулярного моделирования // Биофизика. 2011. Т. 56. вып. 4. С. 609-616.
Равен Х. Оогенез: накопление биологической информации. М.:Мир. 1964. 304 с.
Райков И.Б. Ядро простейших. Л. Наука. 1978. 328 с.
Рапопорт И.А. Quadruple-Bar у *Drosophila* // Бюл. экспер. биологии и медицины. 1936. Т. 2. вып. 4. С. 258-260.
Рапопорт И.А. Многократные линейные повторения участков хромосом и их эволюционное значение // Журн. общ. биол. 1940. Т. 1. № 2. С. 235-270.
Родин С.Н. Закон гомологических рядов Н.И. Вавилова в свете некоторых данных теории молекулярной эволюции / Вавиловское наследие в современной биологии. Отв. ред. В.К. Шумный. М.: Наука, 1989. С. 38–71.
Рожнов С.В. Соматический эмбриогенез у *Bothrophyllum conicum* (Rugosa) // Палеонтол. журн. 1974. № 3. С. 16–22.
Рожнов С.В. Роль гетерохроний в становлении планов строения высших таксонов иглокожих // Изв. РАН. Сер. биол. 2009. № 2. С. 155-166.
Рожнов С.В. Процесс элевации в историческом и индивидуальном развитии иглокожих: причины и следствия // Конференция «Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии». М.: ПИН. 2011. С. 44-46.
Рожнов С.В. Историческое развитие симметрии иглокожих: от первичной билатерально-асимметричной метамерии к пентамерии / Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии: симметрия и асимметрия. М.: ПИН РАН. 2013. С. 181–203.
Рожнов С.В. Роль модулярности и гетерохроний в становлении высших таксонов Metazoa по палеонтологическим данным // Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии: гетерохронии, гетеротопии и аллометрия. М.: ПИН. 2014. С. 61-82.
Розанов А.Ю. Закономерности морфологической эволюции археоциат и вопросы ярусного расчленения нижнего кембрия. М.: Наука, 1973. 164 с.
Руженцев В.Е. Основные типы эволюционных изменений лопастной линии верхнепалеозойских аммонитов // Тр. ПИН АН СССР. 1949. Т. 20. С. 183–198.
Руженцев В.Е. Принципы систематики, система и филогения палеозойских аммоноидей // Тр. ПИН АН СССР. 1960. Т. 83. 331 с.
Рупперт Э.Э., Фокс Р.С., Барнс Р.Д. Зоология беспозвоночных. Т. 3. Членистоногие. 488 с. Т. 4. Циклонейралии, щупальцевые и вторичноротые. 350 с. М: Академия. 2008.

Рэфф З., Кофмен Т. Эмбрионы, гены и эволюция. М.: Мир. 1986. 404 с.
Савельев С.В. Сравнительная анатомия нервной системы позвоночных. М.: ГЭОТАР-МЕД. 2001. 272 с.
Савельев С.В. Происхождение мозга. М.: ВЕДИ. 2005. 367 с.
Самойлов В.И., Васильев Ю.М. Механизмы социального поведения тканевых клеток позвоночных: культуральные модели // Ж. общей биол. 2009. Т. 70. С. 239-244.
Самойлов В.И., Васильев Ю.М. Механизмы социального поведения тканевых клеток позвоночных: культуральные модели // Ж. общей биол. 2009. Т. 70. С. 239-244.
Сахаров В.В. Фролова С.Л., Мансурова В.В. Создание высокоплодовитой тетраплоидной гречихи (*Fagopirum esculentum*) // Докл. АН СССР. 1944. Т. 44. № 6. 280-283.
Свердлов Е.Д. Взгляд на жизнь через окно генома. Т.1. Очерки структурной молекулярной генетики. М.: Наука. 2009. Т. 1. 525 с.
Светлов П.Г. Онтогенез как целенаправленный (телеономический) процесс // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. 1972. Т. 63. № 8. С. 5-16.
Светлов П.Г. Физиология (механика) развития. Л.: Наука. 1978. Т. 1. 279 с; Т. 2. 262 с.
Северцов А.Н. Морфологические закономерности эволюции. М., Л. 1939. 609 с.
Северцов А.Н. Этюды по теории эволюции. Индивидуальное развитие и эволюция. Либроком: М. 2012. 312 с.
Симпсон Дж. Темпы и формы эволюции. М.: ИЛ.1948. 358 с.
Симпсон Дж.Г. Принципы таксономии животных. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2006. 293 с.
Скрипчинский В.В. Эволюция онтогенеза растений: 36-е Тимирязевские чтения. М. Наука. 1977. 87 с.
Стьюарт И. 2007. Какой формы снежинка? Магические числа в природе. Изд-во «Мир книги» 2007. 192 с.
Суслов В. В., Гунбин К. В., Колчанов Н. А. Генетические механизмы кодирования биологической сложности // Экологическая генетика. 2004. Т. 2. Вып. 1. С. 13-26.
Токин Б.П. Регенерация и соматический эмбриогенез. Ленинград: Издательство ЛГУ. 1959. 268 с.
Том Р. Комментарии. Динамическая теория морфогенеза / На пути к теоретической биологии. I. Пролегомены. Ред. Астауров Б.Л. М.: Мир. 1970. С. 38-46, 145-156.
Том Р. Структурная устойчивость и морфогенез. М.: «Логос». 2002. 280 с.
Топунов А.Ф., Петрова Н.Э. Гемоглобины: эволюция, распространение и гетерогенность // Успехи биол. химии. 2001. Т. 41. С. 199-228.
Трифонов Э.Н., Березовский И.Н. Протеомный код // Мол. биология. 2002. Т. 36. С. 315-319.
Уголев А.М. Концепция универсальных функциональных блоков. Эволюционные аспекты // Труды Санкт-Петербургского общества естествоиспытателей. 1994. Т. 90. С. 97-107.
Узбеков Р.Э., Алиева И.Б. Центросома – загадка «клеточного процессора» // Цитология. 2008. Т. 50. № 2. С. 91-112.
Уоддингтон К. Морфогенез и генетика. М.: Мир. 1964. 278 с.
Уоддингтон К.Х. Основные биологические концепции // На пути к теоретической биологии. I. Пролегомены / Астауров Б.Л., ред. М.: Мир. 1970. С. 11-36.
Урманцев Ю.А. Симметрия природы и природа симметрии. М.: Комкнига. 2007. 232 с.

Федонкин М.А. Две летописи жизни: опыт сопоставления (палеобиология и геномика о ранних этапах эволюции биосферы) / Проблемы геологии и минералогии. Отв. редактор А.М.Пыстин. Сыктывкар: Геопринт, 2006. С. 331-350.

Федонкин М.А. Систематическое описание вендских Metazoa / Вендская система. Историко-геологическое и палеонтологическое обоснование. Т. 1. Палеонтология. М.: Наука. 1985. С. 70-106.

Хакен Г. Синергетика. М.: Мир. 1980. 404 с.

Холланд П., Гарсия-Фернандес Х. Гены *Hox,* эволюция развития и происхождение позвоночных // Онтогенез. 1987. Т. 27. № 4. С.273-279.

Хочачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. М.: Мир. 1988. 567 с.

Цвелев Н.Н. Проблемы теоретической морфологии и эволюции высших растений. М.-СПб.: Товарищество научных изданий КМК. 2005. 407 с.

Чернышев А.В., Исаева В.В. Формирование хаотических паттернов гастро-васкулярной системы медузы *Aurelia aurita* в онтогенезе // Биол. моря. 2002. Т. 28. С. 377-381.

Чуриков Н.А., Кретова О.В. РНК-интерференция регулируется в развитии: анализ экспрессии *суффикса* – короткого ретроэлемента в геноме дрозофилы // Генетика. 2003. Т. 39. С. 300-304.

Чуриков Н.А., Гашникова Н.М., Кретова О.В. и др. Сайленсинг ВИЧ-РНК с помощью генетических конструкций, экспрессирующих siРНК // Молек. биология. 2006. Т. 40. № 5. С. 784-787.

Шафранова Л.М. О метамерности и метамерии у растений // Журн. общей биол. 1980. Т. 41. № 3. С. 437-447.

Шевченко К.Г., Данилова А.Б., Гринкевич Л.Н. Посттрансляционная модификация гистона Н3 при консолидации и реконсолидации памяти у моллюска *Helix* // Вестник ВОГиС. 2009. Т. 13. № 4. С. 723-730.

Шевченко А.И., Захарова И.С., Закиян С.М. Эволюция процесса инактивации Х-хромосомы // Acta Natura. 2013.

Шишкин М.А. Эволюция древних амфибий. М.: Наука, 1987. 143 с.

Шишкин М.А. Эволюция как эпигенетический процесс // Современная палеонтология / Под ред. Меннера В.В., Макридина. В.П. М.: Недра, 1988. Т. 2. С. 142-169.

Шишкин М.А. Индивидуальное развитие и уроки эволюционизма // Онтогенез. 2006. Т. 37. № 3. С. 179-198.

Шишкин М.А. Эволюционная теория и научное мышление. // Палеонтол. журн. 2010. № 6. С. 3-17.

Шкундина И.С., Тер-Ованесян М.Д. Прионы // Успехи соврем. биол. 2006. Т. 46. Р. 3-42.

Шмальгаузен И.И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. М. 1938. 144 с.

Шмальгаузен И.И. Пути и закономерности эволюционного процесса. Избранные труды. М.: Наука. 1983. 360 с.

Шубин Н. Вселенная внутри нас. Изд-во АСТ. Москва. 2013. 271 с.

Шубников А.В. Симметрия подобия. Крист. 1960. Т. 5. № 4. С. 489-496.

Юрченко Н.Н., Захаров И.К. Концепция биологической гомологии: исторический обзор и современные взгляды.

Юшин В.В., Малахов В.В. Происхождение сперматозоидов нематод: прогенез на клеточном уровне // Биол. моря. 2014. Т. 40. № 2. С. 83–94.

Abercrombie M. The crawling movement of metazoan cells // Proc. Royal Soc. London. 1980. V. 207. P. 129-147.

Aboobaker A.A., Blaxter M.L. Gene loss during dynamic evolution of the nematode cluster // Curr. Biol. 2003. V. 13. P. 37–40.

Aboobaker A.A., Blaxter M.L. The nematode story: Hox gene loss and rapid evolution / Hox Genes: Studies from the 20th to the 21st Century. Ed. Deutsch J.S. New York: Springer Science+Business Media, LLC Landes Bioscience. 2010. P. 101-110.

Abouhelf E. Developmental genetics and homology: a hierarchial approach // Trends in Ecol. Evol. 1997. V. 12. P. 405-408.

Abouhelf E. Establishing homology criteria for regulatory gene network: prospects and challenges // In: Homology. Novartis Foundation Symposium. 1999. Chichester: Wiley. P. 207-225.

Abzhanov A., Kuo W.P., Hartmann C. et al. The calmodulin pathway and evolution of elongated beak morphology in Darwin's finches // Nature. 2006. V. 442. P. 563-567.

Abzhanov A., Protas M., Grant B.R. et al. Bmp4 and morphological variation of beaks in Darwin's finches // Science. 2004a V. 305. P. 1462–1465.

Abzhanov A., Tabin C.J. Shh and Fgf8 act synergistically to drive cartilage outgrowth during cranial development // Devel. Biol. 2004b V. 273. P. 134–148.

Agalioti T., Chen G., Thanos D. Deciphering the transcriptional histone acetylation code for a human gene // Cell. 2002. V. 111. P. 381-392.

Agata K., Watanabe K. Molecular and cellular aspects of planarian regeneration // Seminars in Cell and Developmental Biology. 1999. V.10. P. 377–383.

Aguinaldo A.M., Turbeville J.M., Linford L.S. et al. Evidence for a clade of nematodes, arthropods and other moulting animals // Nature. 1997. V. 387. P. 489-493.

Ahlberg P.E. Fossils, developmental patterning and the origin of tetrapods / The new panorama of animal evolution. Eds. Legakis A., Sfenthourakis S., Polymeni R., Thessalou-Legaki M. Sofia; Moscow: Pensoft Publ., 2003. P. 45–54.

Ahlberg P.E., Clack J.A., Luksevics E. et al. Ventastega curonica and the origin of tetrapod morphology // Nature. 2008. V. 453. P. 1199-1204.

Ahn S., Henderson K.A., Keeney S. et al. H2B (Ser10) phosphorylation is induced during apoptosis and meiosis in *S. cerevisiae* // Cell Cycle. 2005. V. 4. P. 780-783.

Akam M. Hox genes: from master genes to micromanagers // Curr. Biol. 1998. V. 24 P. 676–678.

Akam M., Dawson J., Tear J. Homeotic genes and the control of segment diversity // Development. 1988. V. 104 (Suppl.) P. 123-133.

Akam M.E. Hox genes and the evolution of diverse body plans // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 1995. V. 349. P. 313–319.

Akam M.E. Hox genes in arthropod development and evolution // Biol. Bull. 1998. V. 195. P. 373-374.

Alberch P., Gould S.J., Oster G.F., Wake D.B. Size and shape in ontogeny and phylogeny // Paleobiology. 1979. V. 5. P. 296-317.

Alberch P., Gould S.J., Oster G.F., Wake D.B. Size and shape in ontogeny and phylogeny // Paleobiology. 1979. V. 5. P. 296-317.

Alberch P. Ontogenesis and morphological diversification // Amer. Zool. 1980. V. 20. P. 653-657.

Alberch P. From genes to phenotype: dynamical systems and evolvability // Genetica. 1991. V. 84. P. 5–11.

Albrecht-Buehler G. Is cytoplasm intelligent too? // Cell and Muscle Motility / Ed. Shay J.W. New York: Plenum Press. 1985. V. 6. P. 1-21.

Albrecht-Buehler G. In defense of “non-molecular” cell biology // Int. Rev. Cytol. 1990. V. 120. P. 191-241.
Alexandrova Y.N., Reunov A.A. The oogonia of macroalga *Undaria pinnatifida* are alkaline-phosphatase positive and contain germinal body-like structure // J. Phycol. 2008. V.44. P. 712-715.
Alié A., Leclère L., Jager M.et al. Somatic stem cells express Piwi and Vasa genes in an adult ctenophore: Ancient association of “germline genes” with stemness // Dev. Biol. 2011. V. 350. P. 183-197.
Al-Mufti R., Hambley H., Farzaneh F. et al., Fetal and embryonic hemoglobins in erythroblasts of chromosomally normal and abnormal fetuses at 10-40 weeks of gastation // Haemotologia. 2000 V. 85. P. 690-693.
Alonso C. The molecular biology underlying developmental evolution. In: Evolving Pathways. Key Themes in Evolutionary Developmental Biology. Eds. Minelli A., Fusco G. Cambridge e a.: Cambridge Univ. Press. 2008. P. 80-99.
Alonso M.E., Pernaute B., Crespo M. et al. Understanding the regulatory genome // Int. J. Dev. Biol. 2009. V. 53. P. 1367-1378.
Ambrose V. A hierarchy of regulatory genes controls a larva-to-adult developmental switch in C. elegans // Cell. 1989. V. 57. P. 49-57.
Ambrose V., Chen X. The regulation of genes and genomes by small RNA // Development. 2007. V.134. P. 1635-1641.
Amores A., Force A., Yan Y.L. et al. Zebrafish *hox* clusters and vertebrate genome evolution // Science. 1998. V. 282. P. 1711-1714.
Amores, A., Suzuki, T., Yan, Y.-L. et al. Developmental roles of pufferfish hox clusters and genome evolution in ray-fin fish // Genome Res. 2004. V. 14. P. 1-10.
Andersen F.G., Jensen J. Heller R.S. et al. *Pax6* and *Pdx* form a functional complex on the rat somatostatin gene upstream enhancer // FEBS Lett. 1999. V. 445. P. 315-320.
Anderson D.T. Embryology and Phylogeny in Annelids and Arthropods. Oxford: Pergamon Press. 1973.
Andreeva T.F., Cook Ch., Korchagina N.M., Akam M. and Dondua A.K. Cloning and analysis of structural organization of *Hox* genes in the Polychaete *Nereis virens* // Ontogenez. 2001. V. 32. P. 225-233.
Andres F., Sarrazin A.F, Peel A.D., Averof M. A segmentation clock with two-segment periodicity in insects // Science. 2012. V. 336. P. 338-341.
Anger K. Contributions of larval biology to crustacean research: a review. Invertebr. Reprod. Devel. 2006. V. 49. P. 175-295.
Arnone M.I., Byrne M., Martinez P. Echinodermata // Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates / Wanninger A. Ed. V. 6. Deuterostomia. Wien: Springer. 2015. P. 1-58.
Aparicio S., Chapman J., Stupka E. et al. Whole-genome shotgun assembly and analysis of the genome of *Fugu rubripes* // Science 2002. V. 297. P. 1301-1310.
Aravin A.A., Numova H.M., Tulin A.V. et al. Double-stranded RNA-mediated silencing of genomic tandem repeats and transposable elements in the *D. melanogaster* germine // Curr. Biol. 2001. V.11. P. 1017-1027.
Arthur W. Conflicting hypotheses on the nature of mega-evolution. In: Evolving Pathways: Key Themes in Evolutionary Developmental Biology. Eds. Minelli A., Fusco G. Cambridge. NY.: Cambridge Univ. Press. 2008. P. 50-61.
Arthur W. Developmental drive: an important determinant of the direction of phenotypic evolution // Evol. Dev. 2001. Vol. 3. P. 271-278.

Arthur W. The emerging conceptual framework of evolutionary developmental biology // Nature. 2002. Vol. 415. P. 757-764.
Arthur W. The origin of animal body plans. A study in evolutionary developmental biology. Cambridge Univ. Press. 2000. 339 p.
Aufsatz W., Mette M.F., van der Winden J. et al. HAD6, a putative histone deacetylase needed to enhance DNA methylation induced by double-stranded RNA // EMBO J. 2002. V. 21. P. 6832-6841.
Aulehla, A., Pourquié, O. Signaling gradients during paraxial mesoderm development. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2010. 2. a000869.
Averof M., Akam M. Hox genes and diversification of insect and crustacean body plans // Nature. 1995. V. 376. P. 420-423.
Averof M., Patel N.H. Crustacean appendage evolution associated with changes in Hox gene expression // Nature. 1997. V. 388. P. 682–686**.**
Ayala F.J. Vagaries of the molecular clock // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. P. 7776-7783.
Baguca J., Tinez P., Paps J., Tariutort M. Unravelling body plan and axial evolution in the Bilateria with molecular phylogenetic markers. In: Evolving Pathways: Key Themes in Evolutionary Developmental Biology. Eds. Minelli A., Fusco G. Cambridge, NY.: Cambridge Univ. Press. 2008. P. 217-238.
Bakalenko N., Novikova E., Nesterenko A.Y., Kulakova M.A. Hox gene expression during postlarval development of the polychaete *Alitta virens //* EvoDevo. 2013. V. 4. № 13.
Balavoine G., de Rosa R., Adoutte A. *Hox* clusters and bilaterian phylogeny // Mol. Phylogen. Evol. 2002. V. 24. P. 366-373.
Ballard W. Morphogenetic movements and fate maps of vertebrates // Am. Zool. 1981. V. 21. P. 391–399.
Ballard W. W. Origin of the hypoblast in *Salmo* I. Does the blastodisc edge turn inward? II. Outward movement of deep central cells // J. Exp. Zool.1966. V. 161. P. 201-210.
Ballard W. W. Problems of gastrulation: real and verbal // BioScience. 1976. V. 26. P. 36–39.
Ballard W.W. Morphogenetic movements and fate map of the cypriniform teleosts, *Catostomus commersoni* (Lacepede) // J. Exp. Zool. 1982. V. 219. P. 301-321.
Balser E.J. Cloning by ophiuroid echinoderm larvae // Biol. Bull. 1998. V. 194. P. 187–193.
Baluska F., Volkmann D., Barlow P.W. Eukaryotic cells and their cell bodies: Cell theory revised // Ann. Botany. 2004. Vol. 94. P. 9-32.
Barlow P.W., Carr D.J., Eds. Positional Control in Plant Development. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 1984. 502 p.
Baroux C., Spillane C., Grossniklaus U. Genomic imprinting during seed development // Adv. Genet. 2002. V. 46. P. 165-214.
Bartel D.P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function // Cell. 2004. V. 116. P. 281-297.
Bartel B., Bartel D.P. MicroRNAs: at the root of plant development? // Plant Physiol. 2003. V. 132. P. 709-717.
Bartolomei M.S., Tilghman S.M. Genomic imprinting in mammals // Ann. Rev. Genet. 1997. V. 31. P. 493-525.
Barucca M., Canapa A., Biscotti M.A. An overview of *Hox* genes in Lophotrochozoa: Evolution and functionality // J. Dev. Biol. 2016. 4(1). 12.
Batygina T. Morphogenetic Developmental Programs, Stem Cells. Nova Science Publishers, Inc. New York. 2011. 163 p.

Batygina T.B. New hypothesis about the initials and genesis of embryoids (somatic embryos) and a position of embryoidogeny in the reproductive system // Apomixis Newsletter. 1991. № 3. P. 19-24.
Batygina T.B. Stem cells and morphogenetic developmental programs in plants. In: Dauther Cells: Properties, Characteristics, and Stem Cells. Eds. Hitomi A., Katoaka V. NY: Nova Science Publishers. 2010. P. 51-128.
Baum B. Left-right asymmetry: Actin-myosin through the looking glass // Curr. Biol. 2006. V. 16. P. R502-R504.
Bavaloine G., de Rosa R., Adoutte A. Hox clusters and bilaterians phylogeny. Mol. Phylogenet. Evol. 2002. V. 24, P. 366-373.
Bailey J.A., Eichler E.E. Primate segmental duplications: crucibles of evolution, diversity and disease // Nat. Rev. Genet. 2006. V. 7(7). P. 552-564.
Baylies, M.K., Bate, M. A myogenic switch in Drosophila // Science. 1996. V. 272, P. 1481-1484.
Baylies, M., Bate, M., Ruiz-Gomez, M. Myogenesis: A view from Drosophila // Cell. 1998. V. 93. P. 921-927.
Baylies, M.K., Michelson, A.M. Invertebrate myogenesis: Looking back to the future of muscle development. // Curr. Opin. Genet. Dev. 2001. V. 11. P. 431–439.
Beach D.L., Salmon E.D., Bloom K. Localization and anchoring of mRNA in budding yeast // Curr Biol. 1999. V. 9. P. 569–578.
Becalska A.N., Gavis E.R. Lighting up mRNA localization in Drosophila oogenesis // Development. 2009. V. 136. P. 2493–2503.
Beklemischev W. On the relationship of the Turbellaria to the other groups of animal kingdom. In: The Lower Metazoa. Ed. Dougherty E.C. Berkeley, Los Angeles. 1963. P. 234-244.
Bell L.R., Maine E.M., Schedl P. et al. *Sex-lethal* a Drosophila sex determination swith gene, exhibits sex-specific RNA splicing and sequence similarity to RNA binding proteins // Cell. 1988. V. 55. P. 1037-1046.
Beloussov L.V. The dynamic architecture of a developing organism. An interdisciplinary approach to the development of organisms. Dordrecht, Boston, London: Kluwer Acad. Publishers. 1998. 238 p.
Beloussov L.V., Grabovsky V.I. Morphomechanics: goals, basic experiments and models // Int. J. Devel. Biol. 2006. V. 50. P. 81-92.
Beloussov L.V. Self-organization, symmetry and morphomechanics in development of organisms // Embryology – updates and highlights on classic topics Ed. Pereira L.A.V. In Tech: Rijeka. 2012. P. 189-210.
Beloussov L.V. Morphomechanics of Development. Heidelberg e a.: Springer Science+Business Media. 2015. 195 p.
Benfey P.N. Stem cells: A tale of two kingdoms // Curr. Biol. 1999. V. 9. P. R171–R172.
Bengtson S., Zhao Y. 1997. Fossilized metazoan embryos from the earliest Cambrian // Science 277. 1645–1648.
Beniaminov A., Westhof E., Krol A. Distinctive structures between chimpanzee and human in a brain noncoding RNA // RNA. 2008. V. 14. P. 1270-1275.
Ben-Tabou de-Leon S., Davidson E.H. Gene regulation: gene control network in development // Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 2007. V. 36. P. 191-212.
Benton M.J., Harper D.A.T. Introduction to Paleobiology and the Fossil Record. Oxford. Wiley-Blackwell. 2009. 592 p.
Ben-Zvi D., Shilo B.-Z. and Barkai N. Scaling of morphogen gradients // Curr. Opin. Genet. Devel. 2011. V. 21. P. 704–710.

Berdasco M., Esteller M. Genetic syndromes caused by mutations in epigenetic genes // Hum. Genet. 2013. V. 132(4). P. 359-383.
Berezhkovskii A.M., Sample C., Shvartsman S.Y. How long does it take to establish a morphogen gradient? // Biophys. J. 2010. V. 99. P. L59–L61.
Berezikov E., Thuemmler F., van Laake L.W. et al. Diversity of microRNAs in human and chimpanzee brain // Nature Genet. 2006. V. 38. P. 1375-1377.
Bergström J. Introduction: The new paleontological panorama / The New Panorama of Animal Evolution. Eds Legakis A., Sfenthourakis S., Polymeni R., Thessalou-Legaki M. Sofia-Moscow. Pensoft. 2003. P. 43-44.
Bergström J., Hou X.-G. Cambrian arthropods: a lesson in convergent evolution // The New Panorama of Animal Evolution / Eds Legakis A., Sfenthourakis S., Polymeni R., Thessalou-Legaki M. Sofia-Moscow. Pensoft. 2003. P. 89-96.
Bernstein B.E., Humphrey E.L., Erlich R.L. et al. Methylation of histone H3 Lys 4 in coding regions of active genes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. V. 99. № 13. P. 8695-8700.
Berrill N.J. Growth, development, and pattern. San Francisco, London. Freeman and Co. 1961. 556 p.
Bestor T.N. Methylation meets acetylation // Nature. 1998. C. 393. P. 311-312.
Bestor T.H. The DNAmethyltransferases of mammals // Hum. Mol. Genet. 2000. V.9. P. 2395-2402.
Bestor T.N., Tycko B. Creation of genomic methylstion patterns // Nat. Genet. 1996. V.12. P. 363-367.
Bharadwaj B., Kolodkin A.L. Descrambling Descam diversity // Cell. 2006. V. 125(3). P. 4210424.
Bhullar B.-A.S., Marugán-Lobón, Racimo J.F. et al. Birds have paedomorphic dinosaur skulls // Nature. 2012. V. 487. P. 223–226.
Bienvenu T., Chelly J. Molecular genetics of Rett syndrome: when DNA methylation goes unrecogniced // Nat. Rev. Genet. 2006. V. 7. P. 415-426.
Biergans S.D., Jones J.C., Treiber N. et al. DNA methylation mediates the discriminatory power of associative long-term memory in honeybees // PLoS ONE. 2012. V. 7. e39349.
Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory // Genes Devel. 2002. V. 16. P. 6-21.
Bird R.J. Chaos and Life. Complexity and order in evolution and thought. N Y.: Columbia Univ. Press. 2003. 320p.
Bisgrove S.R., Henderson D.C., Kropf D.L. Asymmetric division in fucoid zygotes is positioned by telophase nuclei // Plant Cell. 2003. V. 15. P. 854-862.
Black S.D., Gerhart J.C. High-frequency twinning of *Xenopus laevis* embryos from eggs centrifuged before first cleavage // Devel. Biol. 1986. V. 116. P. 228-240.
Blackstone N.W., Jasker B.D. Phylogenetic consideration of clonality, coloniality, and mode of germline development in animals. J. Exp. Zool. 2003. V. 287. P. 35-47.
Bleidorn P., Helm C., Weigert A., Aguado M.T. Annelida / Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates. Ed. Wanninger A. Vol. 2. Wien: Springer. 2015. P. 193-230.
Blobel G. Control of intracellular protein traffic // Meth. Enzymol. 1983. V. 96. P. 663-682.
Boden D., Pusch O., Lee F. et al. Promoter choice affects the potency of HIF-1 specific RNA inheritance // Nucleic Acid Res. 2003. V. 31. P. 5033-5038.
Bohmert K. Camus I., Bellini C. et al. AGO1 defines a novel locus of *Arabidopsis* cjntrolling leaf development // EMBO J. 1998. V. 17. P. 170-180.

Boivin A., Vendrely R., Vendrely C. L'acide desoxyribonucleique du noyau cellulaire depositaire de caracteres hereditaires // C.r. Acad. sci. 1948. V. 226. P. 1061-1063.
Bolker J.A. Comparison of gastrulation in frogs and fish // Amer. Zool. 1994. V. 34. P. 313-322.
Bomze H.M. Lopez A.J. Evolutionary conservation of the structure and expression of alternatively spliced Ultrabithorax isoforms from Drosophila // Genetics. 1994. V. 136(3). P. 965-977.
Bonner J.T. Evolution of Development. Cambridge, NY.: Cambridge Univ. Press. 1958.
Bonner J.T. First Signal: The Evolution of Multicellular Development. Princeton, Oxford: Prinston Univ. Press. 2000. 146 p.
Bonsch D., Lenz B., Reulbach U. et al. Homocysteine associated genomic DNA hypermethylation of the alpha synuclein promoter in patients with alcogolism // Neuroreport. 2005. V.16. P. 167-170.
Bosch T.C.G. Stem cells in immortal *Hydra* // Stem Cells From Hydra to Man. Bosch T.C.G. Ed. Springer. 2008. P. 37-57.
Bouligand Y. Morphological singulatities and macroevolution // Memor. Soc. Ital. Sci. Natur. Mus. Civ. Stor. Natur. Milano. 1996. V. 27. P. 89-94.
Brakefield P.M. A focus on both form and function in examining selection versus constraint / In: Form and Function in Developmental Evolution. Eds. Laubichler M.D., Maienschein J. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 2009. P. 112-131.
Braun T., Buschhausen D.C., Bober E. et al. A novel human muscle factor related to but distinct from MyoD1 induces myogenic conversionin 10T1/2 fibroblasts // EMBO J. 1989. V. 8. P. 701–70.
Braun T., Bober E., Winter B. et al. Myf-6, a new member of the human gene family of myogenic determination factors: evidence for a gene cluster on chromosome 12 // EMBO J. 1990. V. 9. P. 821–831.
Brawley S.H., Robinson K.R. Cytochalasin treatment disrupt the endogenous currents associated with cell polarization in fucoid zygotes: Studies of the role of F-actin in embryogenesis // J. Cell Biol. 1985. V. 100. P. 1173-1184.
Brena C. Myriapoda // Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates / Ed. Wanninger A. Vol. 3. Ecdysozoa I: Non-Tetraconata. Wien: Springer-Verlag. 2015. P. 141-189.
Brena C., Chipman A.D., Minelli A., Akam M. Expression of trunk Hox genes in the centipede *Strigamia maritima*: sense and anti-sense transcripts // Evol. Dev. 2006. V. 8. P. 252–265.
Brena C., Liu P.Z., Minelli A., Kaufman T.C. *Abd-B* expression in *Porcellio scaber* Latreille, 1804 (Isopoda: Crustacea): conserved pattern versus novel roles in development and evolution // Evol. Develop. 2005. V. 7. P. 42-50.
Bridges C.B. The Bar «*bar*» duplication // Science. 1936. V. 83. P. 210-211.
Briggs D.E.G., Erwin D.H., Collier F.J. The Fossils of the Burgess Shale. Washington, London: Smithsonian Inst. Press. 1994. 238 p.
Brink R.A. A genetic change associated with the R locus in maize which is directed and potentially reversible // Genetics. 1956. V. 41. P. 872-889.
Bromham L., Penny D. The modern molecular clock // Nature Genetics. 2003. V. 4. P. 217-224.
Brouzés E., Farge E. Interplay of mechanical deformation and patterned gene expression in developing embryos // Curr. Opin. Genet. Develop. 2004. V. 4. P. 367-374.
Brouzés E., Supatto W., Farge E. Is mechano-sensitive expression of twist involved in mesoderm formation? // Biol. Cell. 2004. V. 96. P. 471–477.

Brown C.J., Ballabio A., Rupert J.L. et al. A gene from the region of the human X inactivation center is expressed exclusively from inactive X chromosome // Nature. 1991. V. 349. P. 38-45.
Brown F.D., Swalla B.J. *Vasa* expression in a colonial ascidian, *Botrylloides violaceus* // Evol. Devel. 2007. V. 9. P. 165–177.
Bruijn de S., Angenent G.C., Kaufmann K. Plant 'evo-devo' goes genomic: from candidate genes to regulatory networks // Trends Plant Sci. 2012 http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2012.05.002
Bub G., Shrier A., Glass L. Global organization of dynamics in oscillatory heterogeneous excitable media // Phys. Rev. 2005. V. 94. P. 028105-1-028105-4.
Budd G.E., Telford M.J. The origin and evolution of arthropods // Nature. 2009. V. 457. P. 812-817.
Buhler M., Verdel A., Moazed D. Tethering RITS to a nascent transcript initiates RNAi and heterochromatin-dependent gene silencing // Cell. 2006. V. 125. № 5. P. 873-886.
Burke A.C., Norwick J. Hox genes and axial specification in vertevrates. Amer. Zool. 2001. V. 41. P. 687-697.
Buss L.W. Slime molds, ascidians and the utility of evolutionary theory // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V. 96. P. 8801–8803.
Buss L.W. The Evolution of Individuality. Princeton, NY: Princeton Univ. Press, 1987.
Butler-Browne G.S., Whalen R.C. Myosin isozyme transitions occuring during the postnatal development of the soleus muscle // Devel. Biol. 1984. V. 102. P. 324-332.
Byrne M.E., Groover A.T., Fontana J.R., Martienssen R.A. Phyllotactic pattern and stem cell fate are determined by the Arabidopsis homeobox gene BELLRINGER // Development. 2003. V. 130. P. 3941-3950.
Cabej N.R. Epigenetic Principles of Evolution. Amsterdam: Elsevier. 2012. 804 p.
Callebaut W. The ubiquity of modularity. In: Modularity: Understanding the Development and Evolution of Natural Complex Systems. Eds. Callebaut W., Rasskin-Gutman D. The Vienna Series in Theoretical Biology. London: The MIT Press. 2005. P. 3-28
Callebaut W., Rasskin-Gutman D. Eds. Modularity: Understanding the Development and Evolution of Natural Complex Systems. The Vienna Series in Theoretical Biology. London: The MIT Press. 2005. 455 p.
Callaway E. Behaviour genes unearthed // Nature. 2013. V. 493. P. 284.
Camazine S., Deneubourg J.L., Franks N.R., Sneyd J., Theraulaz G., Bonabeau E. Self-organization in Biological Systems. Princeton: Princeton Univ. Press. 2001. 560 p.
Cameron R.A., Peterson K.J., Davidson E.H. Developmental Gene Regulation and the Evolution of Large Animal Body Plan // American Zoologist. 1998. V. 38. No 4. P. 609-620.
Cameron R.A., Rowen L., Nesbitt R. et al. Unusual gene order and organization of the sea urchin Hox cluster // J. Exp. Zool. B. 2006. V. 306. P. 45–47.
Caputi L., Borra M., Andreakis N., et al. SNPs and Hox gene mapping in Ciona intestinalis // BMC Genomics. 2008. V. 9. P. 39.
Carpenter K., Hirsch K. F., Horner J. R. Dinosaur Eggs and Babies. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 1996.
Carrel L., Willard H.F. X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females // Nature. 2005. V. 474(7031). P. 400-404.
Carrington J.C., Ambros V. Role of microRNAs in plant and animal development // Science. 2003. V. 301. P. 336-338.
Carroll S.B. Homeotic genes and the evolution of arthropods and chordates // Nature. 1995. V. 376. P. 479–485.

Carroll S.B. Evolution at two levels: On genes and form // PLoS Biol. 2005. 3(7): e245.
Carroll S.B. Grenier J.K., Weatherbee S.D. From DNA to Diversity: Molecular Genetics and the Evolution of Animal Design. 2nd Edition. NY.: Blackwell Publ. 2005. 258 p.
Carroll S.B. The Making of the Fittest: DNA and the Ultimate Forensic Record of Evolution. NY.: Norton and Company. 2006. 300 p.
Carroll S.B. Evo-Devo and an expanding evolutionary sysnthesis: A genetic theory of morphological evolution // Cell. 2008. V. 134. P. 25-36.
Castanon I., Von Stetina S., Kass J. Dimerization partners determine the activity of the Twist bHLH protein during Drosophila mesoderm development // Development. 2001. V. 128(16). P. 3145-3159.
Chan Xin X.Y., Lambert J.D. Development of blastomere clones in the *Ilyanassa* embryo: transformation of the spiralian blastula into the larval body plan // Dev. Genes Evol. 2014. V. 224. P. 159–174.
Chandler V.L., Eggleston W.B., Dorweiler J.E. Paramutation in maize // Plant Mol. Biol. 2000. V. 43. P. 121-145.
Chapman D.L., Papaioannou V. E. Three neural tubes in mouse embryos with mutations in the T-box gene *Tbx6 //* Nature. 1998. V. 391. P. 695-697.
Cheer A., Vincent J.-P., Nuccitelli R., Oster R. Cortical activity in vertebrate eggs. The activation waves // J. Theor. Biol. 1987. V. 4. P. 377-404.
Chen L., Krause M., Sepanski M., The Caenorhabditis elegans MYOD homologue HLH-1 is essential for proper muscle function and complete morphogenesis // Nature Reviews Genetics. 1994. V. 120. P. 1631-1641.
Chen J.-Y., Oliveri P., Li C.-W., Zhou G.-Q., Gao F., Hagadorni J.W., Peterson K.J., Davidson E.H. Precambrian animal diversity: Putative phosphatized embryos from the Doushantuo formation of China // PNAS. USA. 2003. V. 97. P. 4457–4462.
Chen J.M., Chuzhanova N., Stenson P.D. et al. Meta-analysis of gross insertions causing human genetic disease: novel mutational mechanisms and the role of replication slippage // Hum. Mut. 2005. V.25. P. 207-221.
Chen K., Rajewsky N. The evolution of gene regulation by transcription factors and microRNAs // Nature Reviews Genetics. 2007. V. 8. P. 93-103.
Cheng S., Whitelaw E. Epigenetic inheritance // Cur. Opin. Gen. Devel. 2004. V. 14. P. 692-696.
Chenn A. 2002. Making a bigger brain by regulating cell cycle exit // Science. 2002. V. 298. P. 766-767.
Chiba C., Mitashov V.I. Cellular and molecular events in the adult newt retinal regeneration // The stratedies for retinal tissue repair and regeneration in vertebrates: from fish to human / Ed. Chiba C Kerala. India. Res. Signpost. 2007. P. 15-33.
Child C.M. Patterns and Problems of Development / Chicago: Univ. Chicago Press. 1941. 812 p.
Child C.M. The early development of Arenicola and Sternaspis // Roux' Arch. Entwick. Organ. 1900. B. 9. S. 587–723.
Chipman A. Hexapoda: Comparative aspects of early development / Evol. Devel. Biol. Inverteb. V. 5. Ecdysozoa III: Hexapoda. Wanninger A. Ed. Wien e a.: Springer-Verlag. 2015. P. 92-109.
Chipman A. Thoughts and speculations on the ancestral arthropod segmentation. In: Evolving Pathways: Key Themes in Evolutionary Developmental Biology. Eds. Minelli A., Fusco G. Cambridge, NY.: Cambridge University Press. 2008. P. 343-358

Chipman A.D. Developmental exaptation and evolutionary change // Evol. Dev. 2001. V. 3. P. 299-301.
Chiquoine A.D. The identification, origin and migration of the primordial germ cells of the mouse embryo // The Anat. Record. 1954. V. 118. P. 135– 146.
Choi C.Q. The fate of the plant embryo's suspensor: Balancing life and death // PLOS Biol. 2013. V. 11. Issue 9.
Chong S., Whitelaw E. Epigenetic germline inheritance // Current Opinion Gen. Devel. 2004. V. 14. P. 692-696.
Chow I., Poo M.M. Redistribution of cell surface receptors induced by cell-cell contact // J. Cell Biol. 1982. V. 95. P. 510-518.
Christian J.L. Morphogen gradients in development: from form to function // Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol. 2012. V. 1. P. 3–15.
Christodoulou F., Raible F., Tomer R. et al. Ancient animal microRNAs and the evolution of tissue identity // Nature. 2010. V. 463. P. 1084–1088.
Chuma S., Hosokawa M., Kitamura K. et al. Tdrd1/Mtr-1, a tudor-related gene, is essential for male germ-cell differentiation and nuage/germinal granule formation in mice // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. V. 103. P. 15894–15899.
Cinalli R. M., Rangan P., Lehmann R. Germ cells are forever // Cell. 2008. V. 132. P. 559-562.
Clark A.T., Bodnar M.S., Fox M. et al. Spontaneous differentiation of germ cells from human embryonic stem cells in vitro // Human Mol. Genetics. 2004. V. 13. P. 727-739.
Claverie J.-M. What if there are only 30,000 human genes? // Science. 2001. V. 291. P. 1255-1257.
Clemson C.M., McNeil J.A., Willard H. et al. XIST RNA paints the inactive X chromosome at interphase: evidence for a novel RNA involved in nuclear/chromosome struvture // J. Cell Biol. 1996. V. 132. P. 259-275.
Cline C.A. Schatten G. Microfilaments during sea urchin fertilization: fluorescence detection with rhodaminyl phalloidin // Gamete Res. 1986. Vol. 14. P. 227-291.
Collins A.G., Valentine J.W. Defining phyla: evolutionary pathways to metazoan body plan // Evol. Devel. 2001. V. 3. P. 432-442.
Conway Morris S. Eggs and embryos from the Cambrian // BioEssays. 1998b. V. 20. P. 676–682.
Conway Morris S. The Crucible of Creation: the Burgess Shale and the rise of Animals. Oxford, NY., Melbourne: Oxford Univ. Press. 1998. 242 p.
Conway-Morris S. The Cambrian "explosion" of metazoans and molecular biology: would Darwin be satisfied? // Int. J. Dev. Biol. 2003. V. 47. P. 505-515.
Cook H.A., Koppetsch B.S., Wu J. et al. The *Drosophila SDE3* homolog *armitage* is required for *oskar* mRNA silencing and embryonic axis specificftion // Cell. 2004. V. 116. № 6. P. 817-829.
Cooney C. Metyl Magic. USA. Mc Meel Publ. 1999.
Copley R.R. The animal in the genome: comparative genomics and evolution / Phil. Trans. R. Soc. B doi:10.1098/rstb.2008.2235
Corley L.S., White M.A., Strand M.R. Both endogenous and environmental factors affect embryo proliferation in the polyembryonic wasp *Copidosoma floridanum* // Evol. Devel. 2005. V. 7. P. 115-121.
Coulier F., Pantarotti P., Roubin R. et al., Of worms and men: An evolutionary perspective on the fibroblast growth factor (FGF) and FGF receptor families // J. Mol. Biol. 1997. V. 44. P. 43-56.

Cowen R.K., Sponaugle S. Larval Dispersal and Marine Population Connectivity // Ann. Rev. Marine Sci. 2009. V. 1. P. 443-466.
Cox D.N., Chao A., Baker J. et al. A novel class of evolutionary conversed genes defined by *pivi* are essential for stem cell self-reneval // Gen. Devel. 1998. V. 12. № 23. P. 3715-3727.
Craig S.F., Slobodkin L.B., Wray G.A., C.H. Biermann. The ‘paradox’ of polyembryony: A review of the cases and a hypothesis for its evolution // Evol. Ecol. 1997. V. 11. P. 127-143.
Crick F.H.C. Diffusion in embryogenesis // Nature. 1970. V. 225. P. 420-421.
Crisp A., Boschetti C., Perry M., Tunnacliffe A. Micklem G. Expression of multiple horizontally acquired genes is a hallmark of both vertebrate and invertebrate genomes // Genome Biology. 2015. V. 16. P. 50.
Crow M.T., Jlson P.S., Stockdale F.E. Myosin light chain expression during avian muscle development // J. Cell. Biol. 1983. V. 96. P. 736-744.
Currie K.W., Brown D.D.R., Zhu S. et al. HOX gene complement and expression in the planarian *Schmidtea mediterranea //* EvoDevo. 2016. V.7. P.7
Currie P.J. Feathered dinosaurs and the origin of birds / The new panorama of animal evolution. Eds Legakis A., Sfenthourakis S., Polymeni R., Thessalou-Legaki M. Sofia, Moscow: Pensoft Publ. 2003. P. 55-60.
Cvekl A., Piatigorsky J. Lens development and crystalline gene expression: Many roles for *Pax6 //* BioEssays. 1996. V. 18. P. 621-630.
D’Arcy Thompson. On Growth and Form. Cambridge Univ. Press: Cambridge. 1942. 1116 p.
Daley G.Q. Gametes from embryonic stem cells: a cup half empty or half full? // Science. 2007. V. 316. P. 409-410.
Dan–Sohkawa M., Fujisawa H. Cell dynamics of the blastulation process in the starfish, *Asterina pectinifera* // Dev. Biol. 1980. V. 77. P. 328–339.
Dartsch P.C., Ндmmerle H. Orientation of arterial smooth muscle cells to mechanical stimulation // Eur. J. Cell Biol.1986. V. 41. P. 339-346.
Daura-Oller E, Cabre M., Montero M.A. et al. Specific gene hypomethylation and cancer: New insights into coding region feature trends // Bioinformation. 2009. V. 3(8). P. 340-343.
David B., Mooi R. How Hox genes can shed light on the place of echinoderms among the deuterostomes // EvoDevo. 2014. Vol. 5. P. 22.
Davidson, E.H. Understanding embryonic development: A contemporary view // Amer. Zool. 1987. V. 27. P. 581-591.
Davidson E.H. Spatial mechanisms of gene regulation in metazoan embryos // Development. 1991. V. 113. P. 1–26.
Davidson E.H. Later embryogenesis: regulatory circuitry in morphogenetic fields // Development. 1993. V. 118. P. 665-690.
Davidson E.H. The regulatory genome: Gene regulatory networks in development and evolution. San Diego: Acad. Press. 2006. 304 p.
Davidson E.H., Peterson K.J., Cameron R.A. Origin of bilaterian body plans: evolution of developmental regulatory mechanisms // Science. 1995. V. 270. P. 1319-1325.
Davidson E.H., McClay D.R., Hood L. Regulatory gene networks and the properties of the developmental process // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. P. 1475-1480.
Davidson E.H., Erwin D.H. Gene Regulatory Networks and the Evolution of Animal Body Plans // Science. 2006. V. 311. P. 796-800.
Davidson E.H., Erwin D.H. An integrated view of Precambrian eumetazoan evolution. Cold. Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 2010. V. 79. P. 65–80.

Davies J.A. Why a book on branching, and why now? / Ed. Davies J.A. Branching morphogenesis. NY.: Eurekah.com. Springer Science+Business Media. 2005. P. 1-7.
Davies J. Mechanisms of Morphogenesis. 2nd Edit. Amsterdam: Elsevier. 2013. 374 p.
Davis R.L., Weintraub H., Lassar A.B. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts // Cell. 1987. V. 51. P. 987-1000.
De Beer G.R. Embryology and Evolution. Oxford: ClarendonPress. 1930.
De Beer G.F.R.S. Embryos and Ancestors. Oxford: Clarendon Press. 1958. 197 p.
de Napoles M., Mermoud J.E., Wakao R. et al. Polycomb group proteins Ring1 A/B link ubiquitylation of histone H2A to heritable gene silencing and X inactivation // Dev. Cell. 2004. V. 7. № 5. P. 663-676.
De Robertis E.M., Ssasai Y. A common plan for dorsoventral pattering in Bilateria // Nature. 1996. V. 380. P. 37-40.
De Robertis E.M. Evo-devo: variations on ancestral themes // Cell. 2008. V. 132. P. 185–195.
De Robertis E.M. Deciphering complexity in biology: Induction of embryonic cell differentiation by morphogen gradients. Complexity and Analogy in Science // Pontifical Acad. Sciences. 2014. Acta 22. P. 161-184.
De Rosa R., Grenier J.K., Andreeva T. et al. Hox genes in brachiodods and priapulids and protostome evolution // Nature. 1999. V. 399. P. 772-776.
de Ruijter A.J.M., van Gennip A.H., Caron H.N. et al. Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family // Biochem. J. 2003. V. 370. P. 737-749.
Deakin J.E., Yore T.A., Koina E. et al. // PLoS Genet. 2008. V. 4. № 7. P. e1000140.
Deakin J.E., Chaumell J., Hore T.A. et al. Unravelling the evolutionary origin of X chromosome inactivaton in mammals: insights from marsupials and monotremes // Chromosome Res. 2009. V. 17(5). P. 671-685.
Degnan B.M., Vervoort M., Larroux C. et al. Early evolution of metazoan transcription factors // Curr. Opin. Genet. Dev. 2009. V. 19. P. 591–599.
Deisboeck T.S., Couzin I.D. Collective behavior in cancer cell populations // BioEssays. 2009. V. 31. P. 190–197.
Depicter A., Van Montagu M. Posttranscriptional gene silencing in plants // Curr. Op. Cell. 1977. V. 9. P. 373-382.
Deschamps J., van Nes J. Developmental regulation of the Hox genes during axial morphogenesis in the mouse // Development. 2005. V. 132. P. 2931-2942.
Desprat N., Supatto W., Pouille P.-A. et al. Tissue deformation modulates twist expression to determine anterior midgut differentiation in Drosophila embryos // Devel. Cell. 2008. V. 15. P. 470-477.
Deutsch J.S., Mouchel-Vielh E. Hox genes and the crustacean body plan // BioAssays. 2003. V. 25. P. 878-887.
Deutsch J. S. Homeostasis and beyond. What is the function of the Hox genes? / HOX Genes: Studies from the 20th to 21st Century. Ed. Deutsch J. S. Springer Science+Business Media, LLC Landes Bioscience. 2010. P. 155-166.
Devoto S.H., Melancon E., Eisen J.S. et al. Identification of separate slow and fast muscle precursor cells in vivo, prior to somite formation // Development. 1996. V. 122. P. 3371-3380.
Dmitriev A.A., Kashuba V.I., Haraldson K. et al., Genetic and epigenetic analysis of non-small cell lung cancer with Notl-microarrays // Epigenetics. 2012. issue 5. P. 502-513.
Dobzhansky, T. Nothing in biology makes sense except in light of evolution // Am. Biol. Teach. 1973. V. 35. P. 125–129.

Dong D.-J., He H.-Ju., Chai L.-Q. et al. Identification of genes differentially expressed during larval molting and metamorphosis of *Helicoverpa armigera* // Devel. Biol. 2007. P. 7. P. 73.

Dong X.-P., Donoghue P.C.J., Cheng H., Liu J. Fossil embryos from the Middle and Late Cambrian period of Hunan, south China // Nature. 2004. V. 427. P. 237–240.

Donnell D.M., Corley L.S., Chen G., Strand M.R. Caste determination in a polyembric wasp involves inheritance of germ cells // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2004. V. 101. P. 10095-10100.

Donoghue P.C.J., Kouchinsky A., Waloszek D., Bengtson S., Dong X.-P., Val'kov A.K., Cunningham J.A., Repetski J.E. Fossilized embryos are widespread but the record is temporally and taxonomically biased // Evol. Dev. 2006. V. 8. P. 232–238.

Donoghue P.C.J., Cunningham J.A., Dong X.-P., Bengtson S. Embryology in deep time // Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates / Ed. Wanninger A. Vol. 1. Introduction, Non-Bilateria, Acoelomorpha, Xenoturbellida, Chaetognatha. Wien: Springer-Verlag. 2015. P. 45-63.

Dridges C.B. The Bar «bar» a duplication // Science. 1936. V. 83. P. 210-211.

Driesch H. Analytische Theorie der organischen Entwicklung. Leipzig: Engelman. 1894. 184 S.

Driesch H. The Science and Philosophy of the Organism. London: Black. 1908. V. 1. 329 p. V. 2. 381 p.

Driever W., Nьsslein-Volhard C. The bicoid protein determines position in the Drosophila embryo in a concentration-dependent manner // Cell. 1988. V. 54. P. 95-104.

Duan H., Zhang C., Chen J., et al., A key role of Pox meso in somatic myogenesis of Drosophila // Development. 2007. V. 134(22). P. 3985-3997.

Duboule D. Temporal colinearity and the phylotypic progression: a basis for the stability of a vertebrate Bauplan and the evolution of morphologies through heterochrony // Development. Suppl. 1994. P. 135-142.

Duboule D., Morata G. Colinearity and functional hierarchy among genes of the homeotic complexes // Trends Genet. 1994. V. 10. P. 358– 64.

Duboule D. The rise and fall of *Hox* gene clusters // Development. 2007. V. 134. P. 2549-2560.

Duboule D. The rise and fall of *Hox* gene clusters // Development. 2007. V. 134. P. 2549-2560.

Dunin-Borkowski O. M., Brown N. H., Bate M. Anteriorposterior subdivision and the diversification of the mesoderm in Drosophila // Development. 1995. V. 121. P. 4183-4193.

Durston F.J. *Hox* genes: Master regulators of the animal body plan // Embryogenesis. Sato K. Ed. Rijeka: In Tech. 2012. P. 131-150.

Dyke C. The evolutionary dynamics of complex systems / NY.: Oxford Univ. Press. 1988.

Eble G J. Morphological modularity and macroevolution: Conceptual and empirical aspects / In: Modularity: Understanding the Development and Evolution of Natural Complex Systems. Eds. Callebaut W., Rasskin-Gutman D. The Vienna Series in Theoretical Biology. London: The MIT Press. 2005. P. 221-238.

Eckhardt F., Lewin J., Cortese R. et al. DNA methylation profiling of human chromosomes 6, 20 and 22 // Nat. Genet. 2006. V. 38. P. 1378-1385.

Eddy E.M. Germ plasm and the differentiation of the germ cell line // Int. Rev. Cytol. 1975. V. 43. P. 229–280.

Ede D.A. An Introduction to Developmental Biology. NY.: Halsted Press.

Edelman G.M. Neural darwinism: Selection and reentrant signaling in higher brain function // Neuron. 1993. V. 10. P. 115-125.
Edmonton D.G., Olson E.N. A gene with homology to the myc similarity region of MyoD1 is expressed during myogenesis and its sufficient to activate the muscle differentiation programm // Gen. Devel. 1989. V. 3. P. 628-640.
Edvardsen R.B., Seo H-C., Jensen M.F. et al. Remodelling of the homeobox gene complement in the tunicate *Oikopleura dioica* // Curr. Biol. 2005. V. 15. P. R12-R13.
Egger G., Liang G., Aparicio A. et al. Epigenetics in human disease and prospecta for epigenetic therapy // Nature. 2004. V. 429. P. 457-463.
Elbashir S.M., Harborth J., Lendeckel W. et al. RNA interference is mediated by 21-and 22-nucleotide RNAs // Gen. Devel. 2001. V. 15. P. 188-200.
Elinson, R.P. The amphibian egg cortex in fertilization and early development / The Cell Surface: Mediator of Developmental Processes. Eds. Subtelny S., Wessells N.K. NY.: Acad. Press. 1980. P. 217–234.
Elinson R.P., Sabo M.C., Fisher C. et al. Germ plasm in *Eleutherodactylus coqui*, a direct developing frog with large eggs // Evo Devo. 2011. V. 2. P. 20–27.
Elsdale T. The generation and maintenance of parallel arrays in cultures of diploid fibroblasts / Biology of Fibroblasts. Eds. Kulonen E., Pikkarainen J. NY., London: Acad. Press. 1973. P. 41-58.
Erickson J. An introduction to fossils and minerals: seeking clues to the earth's past. Facts On File, Inc.: NY.: 2000. 272 p.
Erives A., Corbo J.C., Levine M. Lineage-specific regulation of the Ciona snail gene in the embryonic mesoderm and neuroectoderm // Devel. Biol. 1998. V. 194. P. 213-225.
Erwin D.H. The origin of bodyplans // Am. Zool. 1999. V. 39. P. 617-629.
Erwin D.H. How Life on Earth Nearly Ended 250 Million Years Ago / Princeton: Princeton Univ. Press. 2006.
Erwin D.H. Early origin of the bilaterian developmental toolkit // Phil. Trans. R. Soc. B. 2009. V. 364. P. 2253–2261.
Erwin D.H., Davidson E.H. The last common bilaterian ancestor // Development. 2002. V. 129. P. 3021-3032.
Erwin D.H., Davidson E.H. The evolution of hierarchical gene regulatory networks // Nature Rev. Genet. 2009. V. 10. P. 141-148.
Erwin D.H., Valentine J.W. The cambrian explosion: the construction of animal biodiversity. Greenwood:Roberts & Co., 2013.
Esteller M. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone and histone modification maps // Nature Rev. Genetics. 2007. V. 8. P. 286-298.
Evans J.D., Wheeler D.E. Gene expression and the evolution of insect polyphenisms // BioEssays. 2001. V. 23. P. 62-68.
Evolving Pathways: Key Themes in Evolutionary Developmental Biology. Eds. Minelli A., Fusco G. Cambridge, NY.: Cambridge Univ. Press. 2008. 426 p.
Ewen-Kampen B., Schwager E.E., Extavour C.G.M. The molecular machinery of germ line specification // Mol. Reprod. Devel. 2010. V. 77. P. 3-18.
Extavour C.G.M. Evolution of the bilaterian germ line: lineage origin and modulation of specification mechanisms // Integr. Comp. Biol. 2007. V. 47. P. 770-785.
Extavour C. Urbisexuality: the evolution of bilaterian germ cell specification and reproductive systems / In: Evolving Pathways: Key Themes in Evolutionary Developmental Biology. Eds. Minelli A., Fusco G. Cambridge, NY.: Cambridge University Press. 2008. P. 321-342.

Extavour C.G., Akam M. Mechanisms of germ cells specification across the metazoans: epigenesis and preformation // Development. 2003. V. 130. № 24. P. 5869-5884.
Falls J.G., Pulford D.J., Wyhe A.A. et al. Genomic imprinting: implications for human disease // Am. J. Pathol. 1999. V. 154. P. 635-647.
Farge E. Mechanical induction of twist in the *Drosophila* foregut/stomodeal primordium // Curr. Biol. 2003. V. 13. P. 1365-1377.
Fazzari M.J., Greally J.M. Epigenomics: beyond CpG islands // Nat. Rev. Genet. 2004. V. 5. P. 446-455.
Feng X., Adiarte E.G., Devoto S.H. Hedgehog acts directly on the zebrafish dermomyotome to promote myogenic differentiation // Dev. Biol. 2006. V. 300. P. 736-746.
Feng J., Fouse S., Fan G. Epigenetic Regulation of Neural Gene Expression and Neuronal Function // Pediat. Res. 2007. V. 61. P. 58R-63R.
Fernald R.D. Eyes: variety, development and evolution // Brain. Behav. Evol. 2004. V. 64(3). P. 141-147.
Ferrandon D., Elphick L., Nьsslein-Volhard C., St Johnston D. Staufen protein associates with the 30 UTR of bicoid mRNA to form particles that move in a microtubule-dependent manner // Cell. 1994. V. 79. P. 1221–1232.
Ferrier D.E.K., Holland P.W.H. *Ciona intestinalis ParaHox* genes: evolution of Hox/ParaHox cluster integrity, developmental mode and temporal colinearity // Mol. Phylogen. Evol. 2002. V. 24. P. 412–417.
Ferrier D.E., Minguillon C., Holland P.W. et al. The amphioxus Hox clusters: deuterostome posterior flexibility and *Hox 14* // Evol. Devel. 2000. V. 2. P. 284-293.
Ferrier D.E.K. When is a *Hox* gene not a *Hox* gene? The importance of gene nomenclature / In: Evolving Pathways: Key Themes in Evolutionary Developmental Biology. Eds. Minelli A., Fusco G. Cambridge, NY.: Cambridge Univ. Press. 2008. P. 175-193.
Ferrier D.E.K., Holland P.W.H. Ancient origin of the *Hox* gene cluster // Nature Reviews Genetics. 2001. V. 2. P. 33–38.
Ferrier D.E.K., Holland P.W.H. Sipunculan *ParaHox* genes. Evolution and Development. 2001. V. 3. P. 263-270.
Ferrier D.E.K. Evolution of *Hox* complexes // *Hox* genes: Studies from the 20th to the 21st centur*y*. Ed. Deutsch J.S. NY.: Landes Bioscience and Springer Science+Business Media. 2010. P. 91-98.
Ferrier D.E.K., Minguillon C. Evolution of the *Hox/ParaHox* gene clusters // Int. J. Dev. Biol. 2003. V. 47. P. 605-611.
Filipowicz W., Jaskiewicz L., Kolb F.A., Pillai R.S. Post-transcription gene silencing by siRNAs and miRNAs // Curr. Opin. Struct. Biol. 2005. V. 15. P. 331-341.
Filonova L., Suárez M., Bozhkov P.V. Detection of programmed cell death in plant embryos / Plant Embryogenesis. Eds. Suárez M.F., Bozhkov P.V. Methods in Molecular Biology. V. 427. Humana Press, Springer Science+Business Media. 2008. P. 173-179.
Findley S.D., Tamanaha M., Clegg N.J. et al. *Drosophila* spingle-class gene, encodes a protein that colocalized with Vasa and RDE/AGO1 homolog, Aubergine, in nuage // Development. 2003. V. 130. № 5. P. 859-871.
Finnin M.S., Donigian J.R., Cohen A. et al. Structures of histone deacetylase homologue bound to the TSA and SAHA inhibitors // Nature. 1999. V. 401. P. 188-193.
Fire A.Z., Xu S.Q., Montgomery M.K. et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans* // Nature. 1998. № 391. P. 806-811.
Fischle W., Wang Y., Allis C.D. Histone and chromatin cross-talk // Curr. Opin. Cell. Biol. 2003. V. 15. P. 172-183.

Fisher M.E., Isaacs H.V., Pownall M.E. eFGF is required for activation of XMyoD expression in the myogenic cell lineage of *Xenopus laevis* // Development. 2002. 129 (6). P. 1307-1315.
Flagel L.E., Wendel J.F. Gene duplicatuin and evolutionary novelty in plant // Nev. Phytol. 2009. V. 1983 (3). P. 557-564.
Fleury V., Watanabe T., Nguyen T.-H. et al. Physical mechanisms of branching morphogenesis in animals / From viscous fingering to cartilage rings branching morphogenesis. Davies J.A. Ed. NY.: Eurekah.comp. Springer Science+Business Media. 2005. P. 202-234.
Focant B., Huriaux F., Vandewalle P. et al. Myosin, parvalbumin and myofibril expression in barbel (*Barbus barbus* L.) latheral white muscle during development // Fish Physiol. Biochem. 1992. V. 10. P. 133-143.
Force A., Lynch M., Pickett F.B. et al. Preservation of duplicate genes by complementary, degenerative mutations // Genetics. 1999. V. 151. P. 1531-1545.
Form and Function in Developmental Evolution. Eds. Laubichler M.D., Maienschein J. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 2009. 234 p.
Fowler J.E., Quatrano R.S. Cell polarity, asymmetric division, and cell fate determination in brown algal zygotes. Semin. // Dev. Biol. 1995. V. 6. P. 347-358.
Frank D. Weeds A.G. The amino acid sequences of the alkali light chains of rabbit skeletal-muscle myosin // Eur. J. Biochem. 1974. V. 44. P. 317-334.
Frank D., Harland R.M. Transient expression of XMyoD in non-somitic mesoderm of Xenopus gastrulae // Development. 1991. V. 113 (4). P. 1387-1393.
Frank U., Plickert G., Mьller W.A. Cnidarian interstitial cells: the dawn of stem cell research. In: Stem Cells in Marine Organisms. Eds. Rinkevich B., Matranga V. Springer: Dordrecht, Heidelberg, London, NY.: 2009. P. 33-59.
Friedman W.E., Moore R.C., Purugganan M.D. The evolution of plant development // Amer. J. Bot. 2004. V. 91. P. 1726-1741.
Fröbius A.C., Seaver E.C. *ParaHox* gene expression in the polychaete annelid *Capitella sp*. // Devel. Genes Evol. 2006. V. 216. P. 81-88.
Fröbius A.C., Matus D.Q., Seaver E.C. Genomic organization and expression demonstrate spatial and temporal Hox gene colinearity in the Lophotrochozoan *Capitella sp*. // PLoS One. 2008. 3(12): e4004.
Funayama N. Stem cells of sponge. In: Stem Cells. From Hydra to Man. Ed. Bosch Th.C.G. Springer. 2008. P. 17-36.
Funayama N., Nakatsukasa M., Mohri K. et al. Piwi expression in archeocytes and choanocytes in Demosponges: Insights into the stem cell system in Demosponges // Evol. Devel. 2010. V. 12. P. 275–287.
Furlong E.E.M., Anderson E.C., Null B. et al., Pattern of gene expression during Drosophila mesoderm development // Science. 2001. V. 293. P. 1629-1633
Fusco G. Trunk segment numbers and sequential segmentation in myriapods // Evol. Devel. 2005. V. 7. P. 608–617.
Galun E. Plant Patterning: Structural and Molecular Aspects. Singapur: World Scientific Publ. Co. 2007. 499 p.
Gangaraju V.K., Haifan L. MicroRNAs: key regulators of stem cells // Nature Rev. Mol. Cell Biol. 2009. V. 10 P. 116-125.
Gao F., Davidson E.H Transfer of a large gene regulatory apparatus to a new developmental address in echinoid evolution // Proc Nat. Acad. Sci. USA. 2008. V. 105. P. 6091-6096.

Gao J., Zhang Z., Mao L. Advances on research epigenetic change of hybrid and polyploidy in plants // African J. Biothechnol. 2011. V. 10(51). P. 10335-10343.
Garsia-Fernándes J. *Hox, ParaHox, ProtoHox* – facts and guesses // Heredity. 2005a. V. 94. P. 145-152.
Garsia-Fernándes J. The genesis and evolution of homeobox gene clusters // Nature Reviews Genetics. 2005b. V. 6. P. 881-892.
Gauthier C.F., Lowey S., Bormioli P.A. et al. Distribution and properties of myosin isozymes in developing avian and mammalian skeletal muscle fibers // J. Cell Biol. 1982. V. 92. P. 471-484.
Géant Л., Mouchel-Vielh E., Coutanceau J.-P. et al. Are Cirripedia hopeful monsters? Cytogenetic approach and evidence for a Hox gene cluster in the cirripede crustacean *Sacculina carcini* // Dev. Gen. Evol. 2006. V. 216. P. 443–449.
Gehring W.J. The master control gene for morphogenesis and evolution of the eye // Genes to cells. 1996. V. 1. P.11-15.
Gehring W.J. Chance and necessity in eye evolution // Genome Biol. Evol. 2011. V. 3. P. 1053-1066.
Gehring W.J., Ikeo K. Pax6: mastering eye morphogenesis and eye evolurion // Trends Genet. 1999. V. 15. N 9. P. 371-377.
Geijsen N., Horoschak M., Kim K. Et al. Derivation of embryonic germ cells and male gametes from embryonic stem cells // Nature. 2003. V. 427. P. 148-154.
Geneviere A-M., Aze A., Even Y. et al. Cell dynamics in early embryogenesis and pluripotent embryonic cell lines: from sea urchin to mammals / Stem cells in marine organisms. Rinkevich B., Matranga V., Eds. Dordrecht: Springer. 2009. P. 215–244.
Ghiselin M.T. Evolutionary aspects of marine invertebrate reproduction. Reproduction of marine Invertebrates. V. 9. General aspects: seeking unity in diversity. Eds. Giese A.C., Pearse J.C., Pearse V.B. 1987. Palo Alto: Blackwell Scientific Publications and Pacific grove: The Boxwood Press. P. 609-665.
Gibert J.-M., Mouchel-Vielh E., Quéinnec E. et al. Barnacle duplicate engrailed genes: divergent expression pattern and evidence for a vestigial abdomen // Evol. Devel. 2000. V. 2. P. 194-202.
Gilbert S.F. Epigenetic landscaping: Waddington’s use of cell fate bifurcation diagrams // Biol. Philos. 1991. V. 6. P. 135-154.
Gilbert S.F. The morphogenesis of evolutionary develomental biology // Intern. J. Devel. Biol. 2003. V. 47. P. 467-477.
Gilbert S.F. Developmental Biology. Sunderland: Sinauer Ass. Inc., 2006. 751 p.
Gilbert S.F. Mechanisms for the environmental regulation of gene expression: Ecological aspects of animal development // J. Biosci. 2005. V. 30. P. 65-74.
Gilbert S.F. From Embryology to Evo-Devo: A History of Developmental Evolution. Eds. Laubichler M.D., Maienschein J. Cambridge, MA: MIT Press. 2007. P. 435-463.
Gilbert S.F., Opitz J.M., Raff R.A. Resynthesing evolutionary and developmental biology // Devel. Biol. 1996. V. 173. P. 357-372.
Giles M.A., Randall D.G. Oxygenation characteristics of the polymorphic hemoglobins of coho salmon (*Oncorhynchus kisuth*) at different developmental stages // Comp. Biochem. Physiol. A. 1980. V. 65. P. 265-271.
Giribet G., Distel D.L., Polz M. et al. Triploblastic relationships with emphasis on the Acoelomates and the position of Gnathostomulida, Cycliophora, Plathelminthes, and Chaetognatha: A combined approach of 18S rDNA sequences and morphology // Syst. Biol. 2000. V. 49. P. 539-562.

Giribet G. New animal phylogeny: future challenges for animal phylogeny in the age of phylogenomics // Org. Divers. Evol. 2016. V. 16. P. 419–426.

Giudice G. Restitution of whole larvae from disaggregated cells of sea urchin embryo // Devel. Biol. 1962. V. 5. P. 402-411.

Glass L. Multistable spatiotemporal patterns of cardiac activity // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. V. 102. P. 10409-10410.

Glenner H., Lьtzen J., Takahashi T. Molecular and morphological evidence for a monophyletic clade of asexually reproducing rhizocephala: *Polyascus*, New Genus (Cirripedia) // J. Crust. Res. 2003. V. 23. P. 548–557.

Goldberg R.B. Plant embryogenesis: Zygote to seed // Science. 1994. V. 266. P. 605-614.

Goldberger A.L. Complex Systems. Giles F. Filley Lecture. // Proc. Amer. Thorac. Soc. 2006. V. 3. P. 467-471.

Goldknopf I.L., Taylor C.W., Baum R.M. et al. Isolation and characterization of protein A24, a «histone-like» non-histone chromosomal protein // J. Biol. Chem. 1975. V. 250. P. 7182-7187.

Goldknopf I.L., Busch H. Isopeptide linkage between nonhistone and histone 2A polypeptides of chromosomal conjugate protein // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1977. V. 74. P. 864-868.

Goldschmidt R.B. Experimentelle mutation und das problem der parallelinduction versuche an *Drosophila* // Biol. Zentralbl. 1927. V. 35. P. 64-73.

Goldschmidt R.B. Physiological Genetics. NY.: McGraw-Hill. 1938. 338 p.

Goldstein B., Hird S.N. Specification of the anteroposterior axis in *Caenorhabditis elegans* // Development. 1996. V. 122. P. 1467-1474.

Goodwin B.C. Development and evolution // J. Theor. Biol. 1982. V. 97. P. 43-55.

Gould S.J. Ontogeny and Phylogeny. Cambridge: Cambridge University Press. 1977. 501 p.

Gould S.J. Wonderful Life. The Burgess and the Nature of History. NY., London. Norton Co. 1989. 347 p.

Gould S.J. An earful of jaw // Nat. Hist. 1990. V. 3. P. 12-23.

Gould S.J. The Structure of Evolutionary Theory. Cambridge, USA: Harvard University Press. 2002. 1433 p.

Gould S. J., LewontinR. C. The spandrels of San Marco and the Panglossian paradigm: a critique of the adaptationist programme // Proc. R. Soc. Lond. B. 1979. V. 205. P. 581-598.

Gould S.J., Vrba E. S. Exaptation – a missing term in the science of form. Paleobiology. 1982. V. 8. P. 4-15.

Graaff E. van der, Laux T., Rensing S.A. The WUS homeobox-containing (WOX) protein family // Genome Biol. 2009. V. 10. P. 248.1-248.9.

Graham L.E., Cook M.E., Busse J.S. The origin of plants: body plan changes contributing to a major evolutionary radiation // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2000. V. 97. P. 4535-4540.

Grande C., Patel N.H. Lophotrochozoa get into the game: the nodal pathway and left/right asymmetry in Bilateria / Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 2009. V. 74. P. 281-287.

Graur D., Li W.-H. Fundamental of molecular evolution. Sinauer Assoc. 2000. 493 p.

Graveley B.R. Alternative splicing: increasing diversity in the proteomic world // Trends Genet. 2001. V.17. P. 100-107.

Grbić M., Nagy L.M., Carroll S.B., Strand M. Polyembryonic development: insect pattern formation in a cellularized environment // Development. 1996. V. 122. P. 795-804.

Green J.B.A., Sharpe J. Positional information and reaction-diffusion: two big ideas in developmental biology combine // Development. 2015. V. 142. P. 1203-1211.

Gregor T., McGregor A.P., Wieschaus E.F. Shape and function of the Bicoid morphogen gradient in dipteran species with different sized embryos // Devel. Biol. 2008. V. 316. P. 350-358.
Greig D., Travisano M. Haploid superiority // Science. 2003. V. 299. P. 524-555.
Grigoryan E. Shared triggering mechanisms of retinal regeneration in lower vertebrates and retinal rescue in higher ones / Tissue regeneration – from basic biology to clinical application. Ed. Davies J. Rieka: In Tach. Croatia. 2012. P. 145-164.
Grimson A., Srivastava M., Fahey B. et al. Early origins and evolution of microRNAs and piwi-interacting RNAs in animals. Nature // 2008. V. 455. P. 1193–1197.
Grinnell K.L., Yang B., Eckert R.L. et al. // J. Invest. Dermatol. 2007. V. 127. № 12. P. 372-380.
Groudine M., Weintraub H. Activation of globin genes during chick development // Cell. 1981. V. 24. P. 393-401.
Gulyas B.J. A reexamination of the cleavage pattern in eutherian mammalian eggs: Rotation of the blastomere pairs during second cleavage in the rabbit // J. Exp. Zool. 1975. V. 193. P. 235-248.
Gunbin K.V., Suslov V.V., Turnaev I.I et al. Molecular evolution of cyclin proteins in animals and fungi // BMC Evol. Biol. 2011. V. 11. P. 224.
Gurwitsch A.G. Über den Begriff des embryonalen Feldes // Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen. 1922. V. 52. S. 383-415.
Gustafson E.A., Wessel G.M. Vasa genes: Emerging roles in the germ line and in multipotent cells // Bioassays. 2010. V. 32. P. 626-637.
Gutierres-Mora A., Gonzalez-Gutierrez A.G., Rodriguez-Garay D. et al. Plant somatic embryogenesis: Some useful considerations / Embryogenesis. Sato K.I., Ed. Rijeka, Croatia: InTech. 2012. P. 229-248.
Hable W., Kropf D. Sperm entry induces polarity in fucoid zygotes // Development. 2000. Vol. 127. P. 493–501.
Hackett J.A., Surani A. DNA methylation dynamic during mammalian life cycle // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 2013. V. 368. P. 1609-1622.
Haeckel E. Evolution of Man: A Popular Exposition of the Principal Points of Human Ontogeny and Phylogeny. NY. Appleton and Co. 1879.
Hagan H.R. Embryology of the Viviparous Insects. NY.: Ronald Press Company. 1951. 472 p.
Hagberg B., Aicordi J., Dias K. et al. A progressive syndrome of autism, dementia, ataxia and loss of purposeful hand use in girls: Report of 35 cases // Ann. Neurol., 1983, № 14. P. 471-479.
Halanych K.M. The new view of animal phylogeny // Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 2004. V. 35. P. 229-256.
Halanych K.M. How our view of animal phylogeny was reshaped by molecular approaches: lessons learned // Org. Divers. Evol. 2016. V. 16. P. 319–328.
Halder O., Gallaret P., Gehing W. Induction of ectopic eyes by targeted expressed of the eyless gene in *Drosophila* // Science. 1995. V. 267. P. 1778-1792.
Hale C.J., Stonaker J.L., Gross S.M. et al. A novel Snf2 protein maintains trans-generational regulatory states established by paramutation in maize // PLoS Biology. 2007. V.5 (10). e275.
Hall B.K. Phylotypic stage or phantom: Is there a highly conserved embryonic stage in vertebrates? // Trends Ecol. Evol. 1997. V. 12. P. 461-463.
Hall B.K. Evolutionary Developmental Biology. 2nd edition. Dordrecht: Kluwer Acad. Publishers: 1998.

Hall B.K. The neural crest as a fourth germ layer and vertebrates a quadroblastic not triploblastic // Evol. Devel. 2000. V. 2. P. 3-5.
Hall B.K. Paleontology and evolutionary developmental biology: A science of the nineteenth and twenty first centuries // Palaeontology. 2002. V. 45. P. 647-669.
Hall B.K. Evo-Devo: evolutionary developmental mechanisms // Int. J. Dev. Biol. 2003. V. 47. P. 491–495.
Hall B.K. Evolutionary developmental biology: where embryos and fossils meet / Human evolution through developmental change. Eds. N. Minugh-Purves and K. J. McNamara. Baltimore: Johns Hopkins Univ. Press 2008. P. 7–29
Hamès C., Ptchelkine D., Clemens H.A., Tsiantis M. From genes to plants via meristems // Development. 2005. V. 132. P. 2679-2684.
Hamilton A., Vionnet O., Chappell L. et al. Two classes of short interfering RNA in RNA silencing // EMBO J. 2002. V. 12. P. 4671-4679.
Hamilton A.L. Towards a mechanical Evo Devo / Form and Function in Developmental Evolution. Eds. Laubichler M.D., Maienschein J. Cambridge, NY., Melbourne, Madrid, Cape Town, Singapore, Sro Paulo: Cambridge Univ. Press. 2009. P. 213-224.
Hamilton W.D. The genetic evolution of social behavior // J. Theor. Biol. 1964. V. 7. P. 1-32.
Hammond S.M., Bernstein E., Beach D. et al. An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells // Nature. 2000. V. 404. P. 293-296.
Hammond S.M., Boettcher S., Coudly A.A. et al. Argonaute2, a link between genetic and biochemical analysis of RNAi // Science. 2001. V. 293. № 5532. P. 1146-1150.
Hammond, C.L., Hinits, Y., Osborn, D.P., et al. Signals and myogenic regulatory factors restrict pax3 and pax7 expression to dermomyotome-like tissue in zebrafish // 2007 Dev. Biol. 302 (2):504-521.
Hans F., Dimitrov S. Histone H3 modification and cell division // Oncogene. 2001. V. 20. P. 3021-3027.
Harrison P.M., Echols N., Gerstein M.B. Digging for dead genes: An analysis of the characteristics of the pseudogene population in the *Caenorhabditis elegans* genome // Nucl. Acid. Res. 2001. V. 29. P. 818-830.
Harrison P.M., Hegyi H., Balasubramanian S. Molecular fossilis in the in the human genome: Identification and analysis of the pseudogenes in chromosome 21 and 22 // Genome Res. 2002. V. 12. P. 272-280.
Hartenstein V., Chipman A.D. Hexapoda: a *Drosophila* ’s view of development / Evol. Devel. Biol. Inverteb. V. 5. Ecdysozoa III: Hexapoda. Wanninger A. Ed. Wien: Springer-Verlag. 2015. P. 1-91.
Harvey R.P. MyoD protein expression in Xenopus embryos closely follows a mesoderm induction-dependent amplification of MyoD tramscription and its synchronous across the future somite exis // Mech. Devel. 1992. V. 37. P. 141-147.
Harvey P.H., Partridge L. Murderous mandibles and black holes in hymenopteran wasps // Nature. 1987. V. 326. 128-129.
Hattori N., Nishino K., Ko Y.G. et al. Epigenetic control of mouse Oct-4 gene expression in embryonic stem cells and trophoblast stem cells // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 17063-17069.
Hattori D., Demir E., Kim H.W., Viragh E., Zipursky S.L., Dickson B.J. Dscam diversity is essential for neuronal wiring and self-recognition // Nature. 2007. V. 449. P. 223-227.
Hattori N., Imao Y., Nishino K. et al., Epigenetic regulation of *Nanog* gene in embryonic stem and trophoblast stem cells // Genes Cells. 2007. V. 12. P. 387-396.

Hay A., Tsiantis M. From genes to plants via meristems // Development. 2005. Vol. 132. P. 2679-2684.
Hay B., Jan L.Y., Jan Y.N. A protein component of *Drosophila* polar granules is encoded by *vasa* and has extensive sequence similarity to ATP-dependent helicases // Cell. 1988. V. 55. P. 577–587.
Hayashi Y., Hayashi M., Kobayashi S. Nanos suppresses somatic cell fate in *Drosophila* germ line // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. V. 101. P. 10338-10342.
Hayashi K., de Sousa L., S.M.C. Surani M.A. Germ cell specification in mice // Science. 2007. V. 316. P. 394-396**.**
Hayashi Y., Saitou M., Yamanaka S. Germline development from human pluripotent stem cells toward disease modeling of infertility // Fertil. Steril. 2012. V. 97. P. 1250-1259.
He L., Hannon G.J. MicroRNAs: Small RNAs with a big role in gene regulation // Nat. Rev. Genetics. 2004. V. 5. P. 522-531.
Heby O. DNA methylation and poleamines in embryonic development and cancer // Intern. J. Dev. Biol. 1995. V. 39. P. 737-757.
Hechinger R.F., Wood A.C., Kuris A.M. Social organization in a flatworm: soldier and reproductive castes // Proc. R. Soc. B. 2010. V. 1753.
Heidrstra R., Sabatini S. Plant and animal stem cells: Similar yet different // Nature. Rev. Molec. Cell Biol. 2014. V. 15. P. 301-311.
Heidstra R. Asymmetric cell division in plant development / Asymmetric Cell Division. Macieira-Coelho A. Ed. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. 2007. P. 1-37
Hejnol A. Acoelomorpha and Xenoturbellida / Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates. Ed. Wanninger A. Vol. 1. Wien: Springer. 2015. P. 203-214.
Hejnol A., Martindale M.Q. Acoel development indicates the independent evolution of the bilaterian mouth and anus // Nature. 2008. V. 456. P. 382-386.
Henry I., Forlani S., Vaillant S. et al., LagoZ and LagZ, 2 genes of CpG dinucleotides, derived from the LacZ gene for the study of epigenetic control // C. R. Acad. Sci. III. 1999. V. 322 (12). P. 1061-1070.
Henry K.W., Wyce A., Lo W. et al. Transcriptional activation via seqential histone H2B ubiquitylation and deubiquitylation, mediated by SAGA-associated Ubp8 // Genes Dev. 2003. V. 17. P. 2648-2663.
Hershko A., Cichanover A. The ubiquitin system // An. Rev. Biochem. 1998. V. 67. P. 425-479.
Hertel J., Stadler P.F. The expansion of animal microRNA families revisited // Life. 2015. V. 5. P. 905-920.
Hinchcliff J.R. Evolutionary aspects of the developmental mechanism underlying the patterning of the pentadactyl limb skeleton in birds and other tetrapods / Trends vertebr. Morphol. Eds. Splechtna H., Hilgers H. Vienna: Gustav Fisher Verlag, 1989. P. 226–229.
Hinegardner R.T. Morphology and genetics of sea urchin development // Amer. Zool. 1975. V. 15. P. 679-689.
Hinman V.F., Nguen A.T., Cameron A., Davidson E.H. et al. Developmental gene regulatory network architecture across 500 million years of echinoderm evolution // Proc. Nat. Acasd. Sci. USA. 2003. V. 100. P. 13356-13361.
Hinman V.F., Davidson E.H. Evolutionary plasticity of developmental gene regulatory network architecture // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. V. 104. P. 19404–19409.
Hirata H., Bessho Y., Kokubu H. et al. Instability of Hes7 protein is crucial for the somite segmentation clock // Nature Genet. 2004. Vol. 36. P. 750-754.

Hirokawa N., Tanaka Y., Okada Y. Left-right determination: Involvement of molecular motor KIF3, cilia, and nodal flow / Cold Spring Harb. Perspect Biol. 2009. 1, a000802.
Hшeg J.T. Rhizocephala. In: Microscopic Anatomy of Invertebrates. V. 9: Crustacea. NY.: Wiley-Liss. 1992. P. 313–345.
Hшeg J.T., Lьtzen J. Life cycle and reproduction in the Cirripedia Rhizocephala. Oceanogr. Marine Biol.: Ann. Rev. 1995. V. 33. P. 427-485.
Hoegg S., Brinkmann H., Taylor J.S. et al., Phylogenetic timing of the fish-specific duplication correlates with the diversification in teleost fish // J. Mol. Evol. 2004. V. 59. P. 190-203.
Hoegg S., Vences M., Brinkmann H., Meyer A. Phylogeny and comparative substitution rates of frogs inferred from sequences of three nuclear genes // Mol. Biol. Evol. 2004. V. 21. P. 1188-1200.
Hogan B. Primordial germ cells as stem cells // In: Stem Cell Biology. Eds. Marshak D.R., Gardner R.L., Gottlieb D. NY.: Cold Spring Harbor Lab. Press. 2001. P. 189-204.
Holland P.W.H. Major transitions in animal evolution: a developmental genetic perspective // Amer. Zool. 1998. V. 38. 829-842.
Holland P.W.H. Gene duplication: past, present and future // Semin. Cell. Devel. Biol. 1999. V. 10. P. 541-547.
Holland P.W.H. Beyond the Hox: how widespread is homeobox gene clustering? // J. Anat. 2001. V. 199. P. 13-23.
Holland P.W.H. Evolution of homeobox genes // WIREs Dev. Biol. 2013. V. 2. P. 31–45.
Holland P.W.H. Did homeobox gene duplications contribute to the Cambrian explosion? // Zool. Lett. 2015. 1:1 DOI 10.1186/s40851-014-0004-x
Holland P.W.H., Takahashi T. The evolution of homeobox genes: Implications for the study of brain development // Brain Res. Bull. 2005. V. 66. P. 484–490.
Holland P. W. H., Garcia-Fernandez J., Williams N. A., et al. Gene duplications and the origins of vertebrate development // Development. 1994. Supp. P. 125-133.
Holland L.Z., Albalat R., Azumi K. et al. The amphioxus genome illuminates vertebrate origins and cephalochordate biology // Genome Res. 2008. V. 33. P. 1100–1111.
Hollenberg S.M., Cheng P.F., Weintraub H. Use of a conditional MyoD transcription factor in studies of MyoD trans-activation and muscle determination // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993. V. 90. P. 8028–8032.
Holley S.A., Jackson P.D., Sasai Y. et al. A conserved system for dorsalventral patterning in insects and vertebrates involving sog and chordin // Nature. 1995. V. 376. P. 249–253.
Holley S.A. The genetics and embryology of zebrafish metamerism // Devel. Dynam. 2007. Vol. 236. P. 1422-1449.
Hornstein E., Ed. micro RNA in Development. San Diego: Academic Press – Elsevier. 2012. 316 p.
Hцrstadius S. Experimental Embryology of Echinoderms. Oxford: Clarendon Press. 1973. 192 p.
Hou X.-G., Aldridge R.J., Begstrцm J. et al. The Cambrian Fossils of Chengjiang, China: The Flowering of Early Animal Life. Malden, USA, Oxford, UK, Carlton, Australia: Blackwell Publ. 2004. 233 p.
Houston D.W., King M.L. Germ plasm and molecular determinants of germ cell fate // Current Topics Devel. Biol. 2000. V. 50. P. 155–181.
Hsu J.Y., Sun Z.W., Li X. et al. Mitotic phosphorylation of histone H3 is governed by Ip11 / aurora kinase and Gle / PP1 phosphatase in budding yeast and nematodes // Cell. 2000. V. 102. P. 279-291.

Hu H.Y., Guo S., Xi J. et al. MicroRNA expression and regulation in human, chimpanzee, and macaque brains // PLoS Genet. 2011. 7(10): e1002327.
Hu X., Guo J., Zheng L. et al. The heterochronic microRNA *let-7* inhibits cell motility by regulating the genes in the actin cytoskeleton pathway in breast cancer // Mol. Cancer Res. 2013. V. 11. P. 240–250.
Huang S. The molecular and mathematical basis of Waddington's epigenetic landscape: A framework for post-Darwinian biology? // Bioessays. 2011. V. 34. P. 149–157.
Hübner C. *Hox* genes, homology and axis formation: the application of morphological concepts to evolutionary developmental biology // Theor. Biosci. 2005. V. 124. P. 371–396.
Hudson A. Development of symmetry in plants // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 2000. V. 51. P. 349–370.
Hughes D.S.T., Keynes R.J. Tannahill D. Extensive molecular differences between anterior- and posterior-half-sclerotomes underlie somite polarity and spinal nerve segmentation // BMC Devel. Biol. 2009. V. 9. P. 9-30.
Hughes I.C., Haug J.T., Waloszek D. Basal euarthropod development: a fossil-based perspective // Evolving pathways: key themes in evolutionary developmental biology / Eds Minelli A., Fusco G. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 2008. P. 281–298.
Hutvagner G., Zamore P. RNAi: nature abhors a double strand // Curr. Opin. Genet. Dev. 2002. V. 21. P. 225-232.
Huxley J. Problems of Relative Growth. London: Methuen. 1932.
Ikegami K., Ohgane J., Tanaka S. et al. Interplay between DNA methylation, histone modification and chromatin remodeling in stem cells and during development // Int. J. Dev. Biol. 2009. V. 53. P. 203-214.
Ikuta T. Evolution of invertebrate deuterostomes and *Hox/ParaHox* genes // Genomics, Proteomics, Bioinformatics. 2011. V. 9. P. 77–96.
Ikuta T, Saiga H: Organization of *Hox* genes in ascidians: present, past, and future. // Dev. Dynam. 2005. V. 233. P. 382–389.
Ikuta T, Saiga H: Dynamic change in the expression of developmental genes in the ascidian central nervous system: revisit to the tripartite model and the origin of the midbrain-hindbrain boundary region // Devel. Biol. 2007. V. 312. P. 631–643.
Ikuta T., Yoshida N., Satoh N. et al. *Ciona intestinalis* Hox gene cluster: its dispersed structure and residual collinear expression in development // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. V. 101. P. 15118-15123.
Ingber D.E. Mechanical control of tissue growth: Function follows form // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. V. 102. P. 11571-11572.
Ingber D.E. Mechanical control of tissue morphogenesis during embryological development // Int. J. Devel. Biol. 2006. V. 50. P. 255-266.
Irie N., Kuratani S. Comparative transcriptome analysis reveals vertebrate phylotypic period during organogenesis // Nat. Commun. 2011. V. 2. P. 248.
Irish V.F. Duplication, diversification, and comparative genetics of angiosperm MADS-box genes / In: Developmental Genetics of the Flower. Eds. Soltis D.E., Leebens-Mack J.H., Soltis P.S. Amsterdam: Acad. Press. 2006. P. 121-161.
Irish V.F., Martinez-Arias A., Akam M. Spatial regulation of the Antennapedia and Ultrabithorax homeotic genes during Drosophila early development // EMBO J. 1989. V. 8. P. 1527-1537.
Irvin S.Q., and Martindale M.Q. Expression pattern of anterior Hox genes in the polychaete *Chaetopterus*: Correlation with morphological boundaries // Dev. Biol. 2000. V. 217. P. 333-351.

Isaeva V.V. Pluripotent gametogenic stem cells of asexually reproducing invertebrates. In: Embryonic Stem Cells – Basic Biology to Bioengineering. Ed. Kallos M. Rijeka: Intech. 2011. P. 449-478.

Isaeva V.V. Topological and fractal approaches to systematics and biodiversity / In: Invertebrates: Classification, Evolution and Biodiversity. Ed. Riosmena-Rodrigez R. NY.: Nova Science Publishers. 2013. P. 225-242.

Isaeva V.V. Symmetry transformations in ontogeny and evolution // Paleontol. J. 2014a. V. 48. N 11. P. 1-10.

Isaeva V.V. Cell social behavior in Prokaryota and Eukaryota. / Social Behavior: Evolutionary Pathways, Environmental Influences and Impairments. Ed. P. Watson. NY.: Nova Science Publishers, Inc. 2014b. P. 121-141.

Isaeva V.V. Heterochronies, heterotopies, and cell resources of development in ontogenetic and evolutionary transformation // Paleontol. J. 2015. V. 49. N 14. P. 1530-1537.

Isaeva V.V. Evolutionary gains and losses in Bilateria // Paleontol. J. 2016. V. 50. № 13. P. 5-13.

Isaeva V., Alexandrova Ya., Reunov A. Interaction between chromatoid bodies and mitochondria in neoblasts and gonial cells of the asexual and spontaneously sexualized planarian *Girardia (Dugesia) tigrina* // Invert. Reprod. Devel. 2005. V. 48. P. 119-128.

Isaeva V.V., Presnov E.V., Chernyshev A.V. Topological patterns in metazoan evolution and development // Bull. Math. Biol. 2006. V. 68. P. 2053-2067.

Isaeva V.V., Kasyanov N.V., Presnov E.V. *Analysis situs* of spatial-temporal architecture in biological morphogenesis / In: Progress in Mathematical Biology Research. Ed. J.T. Kelly. NY.: Nova Science Publ. 2008. P. 141-189.

Isaeva V.V., Kasyanov N.V. Presnov E.V. Topology in biology: Singularities and surgery transformations in metazoan development and evolution // Applied Mathematics. 2014. V. 5. P. 2664-2774.

Isaeva V.V., Kasyanov N.V., Presnov E.V. Topological singularities and symmetry breaking in development // BioSystems. 2012. V. 109. P. 280-298.

Isaeva V.V., Shukalyuk A.I., Korn O.M. et al. Development of primordial externae in the colonial interna of *Polyascus polygenea* (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) // Crust. Res. 2004. N 33. P. 61-71.

Isaeva V.V., Shukalyuk A.I., Trofimova A.V. et al. The structure of colonial interna in Sacculina polygenea (Crtustacea: Cirripedia: Rhizocephala) // Crust. Res. 2001. N 30. P. 134-147.

Ishizuya-Oka A., Hasebe N., Shi Y.B. Apoptosis in amphibian organs during metamorphosis // Apoptosis. 2010. V. 15. P. 350-364.

Jackson J. et al. Control of CpNpG DNA methylation by the kryptonite histone H3 methyltransferase // Nature. 2002. V. 416. P. 556-560.

Jacob F. Evolution and tinkering // Science.1977. V. 196. P. 1161-1166.

Jacobsen S.E., Meyerowitz E.M. Hypermethylated SUPERMAN epigenetic alleles in Arabidopsis // Science. 1997. V. 277. № 5329. P. 1100-1103.

Jaeckle W.B. Multiple modes of asexual reproduction by tropical and subtropical sea star larvae: an unusual adaptation for genet dispersal and survival // Biol. Bull. 1994. V. 186. P. 62-71.

Jakob W., Sagasser S., Dellaporta S., et al. The *Trox-2* Hox/Parahox gene of *Trichoplax* (Placozoa) marks an epithelial boundary // Dev. Genes Evol. 2004. V. 214. P. 170–175.

Jamniczky H.A., Boughner J.C., Rolian C. et al. Rediscovering Waddington in the post-genomic age. Operationalising Waddington's epigenetics reveals new ways to investi-

gate the generation and modulation of phenotypic variation // Bioessays. 2010. V. 32. P. 1–6.
Jenner R. Evo-devo's identity: from model organisms to developmental types. In: Evolving Pathways: Key Themes in Evolutionary Developmental Biology. Eds. Minelli A., Fusco G. Cambridge, NY.: Cambridge Univ. Press. 2008. P. 100-120.
Jenner R.A. Carrying metazoan phylogenetics forward in the 21rt century // Contr. Zool. 2001. V. 70. P. 181-184.
Jenner R.A. Evolution of animal body plan: the role of metazoan phylogeny at the interface between pattern and process // Evol. Devel. 2000. V. 2. P. 208-221.
Jenuwein T., Allis C.D. Translating the histone code // Science. 2001. V. 293. P. 1074-1080.
Jiang Y.-J., Aerne B.L., Smithers L. et al. Notch signalling and the synchronization of the somite segmentation clock // Nature. 2000. V. 408. P. 475-479.
Jirtle R.L., Skinner M.K. Environmental epigenomics and disease susceptibility // Nature Rev. Genetics. 2007. V. 8. P. 253-262.
Jockush E.L., Smith F.W. Hexapoda: Comparative aspects of later embryogenesis and metamorphosis / Evolutionary developmental biology of invertebrates. V. 5. Ecdysozoa III: Hexapoda. Ed. Wanninger. A. Wien: Springer Verlag: 2015. P. 111-208.
Johannsen O.A., Butt F.H. Embryology of Insects and Myriapods / The developmental history of insects, centipedes, and millipedes from egg deposition to hatching. NY.: London: McGraw-Hill Book Co. 1941. 462 p.
Johnson B.R., Lam S.K. Self-organization, natural selection, and evolution: cellular hardware and genetic software // BioScience. 2010. V. 60. P. 879–885.
Johnson M.N., Maro B.A. A dissection of the mechanisms generating and stabilizing polarity in mouse 8- and 16-cell blastomeres: the role of cytoskeletal elements // J. Embryol. Exp. Morphol. 1985. V. 90. P. 311-334.
Johnson M.N., Ziomek C.A. Induction of polarity in mouse 8-cell blastomeres: specifity, geometry and stability // J. Cell Biol. 1981. V. 91. P. 303-308.
Jones P.A. Gene activation by 5-azacytidine / In «DNA methylation. Biochemistry and Biological Significance». Eds. Razin A., Cedar H. Riggs A.D. NY.: Springer Verlag. 1984. P. 165-187.
Jones P.A., Tayler S.M. Cellular differentiation, cytidine analogs, and DNA methylation // Cell. 1980. V.20. P. 85-93.
Josefowicz C., McClintock J., Prince V. The fate of zebrafish *Hox* gene duplication // J. Struct. Func. Genomics. 2003. V. 3. P. 185-194.
Juliano C., Wessel G. Versatile germline genes // Science. 2010. V. 329. P. 640–641.
Juliano C.E., Voronina E., Stack C. et al. Germ line determinants are not localized early in sea urchin development, but do accumulate in the small micromere lineage // Dev. Biol. 2006. V. 300. P. 406-415.
Juliano C.E., Swartz S.Z., Wessel G.M. A conserved germline multipotency program // Development. 2010. V. 137. P. 4113-4126.
Jürgens G. Growing up green: cellular basis of plant development // Mech. Devel. 2003. V. 120. P. 1395–1406.
Kadokawa Y., Dan-Sohkawa M., Eguchi G. Studies on mechanism of blastula formation in starfish embryos denuded of fertilization membrane // Cell Differ. 1986. V. 19. P. 79–88.
Kafri T., Ariel M., Brandeis M. et al. Developmental pattern of gene specific DNA methylation in the mouse embryo and germ line // Genes Devel. 1992. V. 6. P. 705-714.

Kalmykova A.I., Klenov M.S., Gvozdev V.A. Argonaute protein PIVI controls mobilization of retrotransposons in the *Drosophila* male germinale // Nucl. Acids Res. 2005. V. 33. P. 2052-2059.
Kampa D., Cheng J., Kapranov P. et al. Novel RNAs identified from an indepth analesis of the transcriptome of human chromosomes 21 and 22 // Genome Res. 2004. V.14. P. 331-342.
Kappen C. Vertebrate Hox genes and specializations in mammals / Key Transitions in Animal Evolution. Eds. Desalle R., Schierwater B. Enfi eld, USA: Science Publishers. 2011. P. 238-258.
Kappen C., Schughart K., Ruddle F.H. Two steps in the evolution of Antennapedia-class vertebrate homeobox genes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1989. V. 86. P. 5459-5463.
Kasyanov V.L. Reproductive Strategy of Marine Bivalves and Echinoderms. Enfield, NH, USA: Science Publishers Inc. 2001. 229 p.
Kato M., Slack F.J. microRNAs: small molecules with big roles – *C. elegans* to human cancer // Biol. Cell. 2008. V. 100. P. 71–81.
Kauffman S.A. The origins of order. Self-organization and selection in evolution. NY., Oxford: Oxford Univ. Press. 1993. 734 p.
Kawakami Y., Esteban R., Raya M., Kawakami H., Martн M., Dubova I., Izpisъa Belmonte J.C. Wnt/beta-catenin signaling regulares vertebrate limb regeneration // Genes Dev. 2006. V. 20. P. 3232-3237.
Kawasaki I., Shim Y.H., Kirchner J. Et al. PGL-1, apredicted RNA-binding component of germ granules, is essential for fertility in *C. elegans* // Cell. 1998. V. 94. P. 635-645.
Kelley K., Lin S.-L. Induction of somatic cell reprogramming using the microRNA miR-302 / Progress in Molecular Biology. Elsevier Inc. and Translational Science. 2012. V. 111. P. 83-107.
Kemp T.S. Mammal-like reptiles and the origin of mammals. NY.: Acad. Press, 1982. 363 p.
Kerkis A., Fonseca S.A.S., Serafim R.C. et al. *In vitro* differentiation of male mouse embryonic stem cells into both presumptive sperm cells and oocytes // Cloning Stem Cells. 2007. V. 9. P. 535–548.
Kerszberg M., Wolpert L. The origin of metazoa and the egg: a role for cell death // J.Theor.Biol. 1998. V. 193. P. 535–537.
Kim C.H., Oda T., Itoh N. et al. Repressor activity of Headless/Tcf3 is essential for vertebrate head formation // Nature. 2000. V. 407. P. 913-916.
Kim W.S., Stocum D.L. Retinoic acid modifies positional memory in the anteroposterior axis of regenerating axolotl limbs // Devel. Biol. 1986. V. 114. P. 170-179.
Kimmel C. B., Ballard W. W., Kimmel S. R. et al. Stages of embryonic development of the zebrafish // Develop. Dynam. 1995. V. 203. P. 25–310.
Kimura M. The neutral theory of molecular evolution. Cambridge. Cambridge Univ. Press. 1983. 367 p.
King M.-C., Wilson A.C. Evolution at two levels in humans and chimpanzees // Scitnce. 1975. V.188. P. 107-116.
King N., Westbrook M.J., Young, S.L. et al. The genome of the choanofl agellate *Monosiga brevicollis* and the origin of metazoans // Nature. 2008. V. 451. P. 783–788.
Kirschner M., Gerhart J. Evolvability // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 8420-8427.
Kirschner M., Gerhart J., Hara K. et al. Initiation of the cell cycle and establishment bilateral symmetry in Xenopus eggs / In: The cell surface: mediator of developmental processes. Ed. Subtelny E., Wessels N.K. N.Y.: Acad. Press. 1980. P. 187-215.

Kirschner M., Newport J., Gerhart J. The timing of early developmental events in *Xenopus* // Trends Genet. 1985. V. 1. P. 41-47.
Kirschner, M. W., Gerhart, J. C. The Plausibility of Life. New Haven, London: Yale Univ. Press. 2005. 314 p.
Kleinjan D.J., van Heyningen V. Position effect in human genetic disease // Hum. Mol. Genet. 1998. V.7. P. 1611-1618.
Kline D., Nuccitelli R. The wave of activation current in the *Xenopus* egg // Devel. Biol. 1985. V. 111. P. 471-487.
Kloc M., Bilinski S., Etkin L.D. The Balbiani body and germ cell determinants: 150 Years Later // Curr. Top. Devel. Biol. 2004. V. 59. P. 1-36.
Kmita-Cunise M., Loosli F., Bierne J. et al., Homeobox genes in the ribbonworms *Lineus sanguinneus:* evolutionary implications // Proc. Natl. Acad. Scu USA. 1998. V. 95. P. 3030-3035.
Kogan G.L., Tulin A.V., Aravin A.A. et al. The *GATE* retrotpansposon in *Drosophila melanogaster*: mobility in heterochromatin and aspects of its expression in germline tissues // Mol. Genet. Genomics. 2003. V. 269. № 2. P. 234-242.
Kondrashov F.A., Kondrashov A.S. Role of selection in fixation of gene duplication // J. Theor. Biol. 2006. V. 239. P. 141-151.
Kopelman N.M., Lancet D., Yanai I. Alternative phlicing and gene duplication are inversely correlated evolutionary mechanisms // Nat. Genet. 2005. V. 37. P. 588-589.
Kotaja N., Bhattacharyya S.N., Jaskiewicz L. et al. PGL-1, a predicted RNA-binding component of germ granules, is essential for fertility in *C. elegans* // Cell. 1998. V. 94. № 5. P. 635-645.
Kotaja N., Bhattacharyya S.N., Jaskiewicz L. et al. The chromatoid bodies of male germ cells: Similarity with processing bodies and presence of dicer and microRNA pathway components // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2006. V. 103. P. 2647–2652.
Kourakis M.J., Martindale M.Q. Combined-method phylogenetic analysis of *Hox* and *Para-Hox* genes of the metazoa // J. Exp. Zool. 2000. V. 15. P. 175-191.
Kouzarides T. Chromatin modifications and their function // Cell. 2007. V. 128. P. 693-705.
Krause M., Fire A., White-Harrison S. et al. CeMoyD accumulation defines the body wall muscle cell fate during *C. elegans* embryogenesis // Cell. 1990. V. 63. P. 907-919.
Krebs J.F. Moving marks: dynamic histone modification in east // Mol. Biosyst. 2007. V. 3. P. 590-597.
Krumlauf R. Hox genes in vertebrate development // Cell. 1994. 78, 191–201.
Kulakova M., Bakalenko N., Novikova E. et al. *Hox* gene expression in larval development of the polychaetes *Nereis virens* and *Platynereis dumerilii* (Annelida, Lophotrochozoa) // Dev. Genes Evol. 2007. V. 217. P. 30-54.
Kunwar P.S., Lehmann R. Developmental biology: Germ cell attraction // Nature. 2003. V. 421. P. 226–227.
Kuroda R., Endo B., Masanri A., Shimuzu M. Chiral blastomere arrangement dictates zygotic left-right asymmetry pathway in snails // Nature. 2009. V. 462. P. 790–794.
Kusserow A., Pang K., Sturm C. et al. Unexpected complexity of the Wnt gene family in a sea anemone // Nature. 2005. V. 433. P. 156–160.
Kyozuka K. The mechanism of sperm penetration in starfish // Bull. Mar. Biol. Stn. Asamushi, Tohoku Univ. 1993. V. 19. P. 1-15.
Lacham-Kaplan O. *In Vivo* and *In Vitro* differentiation of male germ cells in the mouse // Reproduction. 2004. V. 128. P. 147–152.

Lachner M., O'Sullivan R.F., Jenuwein T. An epigenetic road map for histone lysine methylation // J. Cell Sci. 2003. V. 116. P. 2117-2124.
Lagos-Quintana M., Rauhut R., Lendeckel W. et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs // Science. 2001. V. 294. P. 853-858.
Laird D.J., De Tomaso A.W., Weissman I.L. Stem cells are units of natural selection in a colonial ascidian // Cell. 2005. V. 123. P. 1351-1360.
Lanfear R. Are the deuterostome posterior Hox genes a fast-evolving class? / *Hox* Genes. Studies from the 20th to the 21st Century. Ed. Deutsch J. Landes Bioscience. 2010. P. 1-11.
Lang D., Rensing S.A. The evolution of transcriptional regulation in the viridiplantae and its correlation with morphological complexity / Evolutionary Transitions to Multicellular Life. Principles and Mechanisms. Eds. Ruiz-Trillo I., Nedelcu A.M. Dordrecht e a.: Springer Science+Business Media. 2015. P. 301-334.
Langdale J.A., Harrison C.J. Developmental transition during the evolution of plant form // Evolving pathways: Key themes in evolutionary developmental biology. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 2008. P. 299-315.
Langstroth L., Langstroth L. A Living Bay: The Underwater World of Monterey Bay / Monterey Bay Aquarium. Newberry A.T. Ed. Univer. California Press. 2000. 287 p.
Lantz V.A., Clemens S.E., Miller K.G. The actin cytoskeleton is required for maintenance of posterior pole plasm components in the *Drosophila* embryo // Mech. Devel. 1999. V. 85. P. 111-122.
Larroux C. Fahey B., Degnan S.M0. et al. The NK homeobox gene cluster predates the origin of Hox genes // Curr. Biol. 2007. V. 17. P. 706–710.
Larroux C., Luke G.N., Koopman P. et al. Genesis and expansion of metazoan transcription factor gene classes // Mol. Biol. Evol. 2008. V. 25. P. 980–996.
Lau N.C., Lim E.P., le Weinstein E.G. et al. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans* // Science. 2001. V. 294. P. 858-862.
Laubichler M.D. Form and function in Evo Devo: historical and conceptual reflections / In: Form and function in developmental evolution. Eds. Laubichler M.D., Maienschein J. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 2009. P. 10-46.
Le Douarin N.M., Creuzet S., Couly G. et al. Neural crest cell plasticity and its limits // Development. 2004. V. 131. P. 4637–4650.
Leatherman J.L., Jongens T.A. Transcriptional silencing and translational control: Key features of early germline development // BioEssays. 2003. V. 25. P. 326-335.
Lee P.N., Pang K., Matus D.Q., Martindale M.Q. A WNT of things to come: evolution of Wnt signaling and polarity in cnidarians. Semin. // Cell Dev. Biol. 2006. V. 17. P. 157–167.
Lee R.C., Feinbaum R.L., Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14* // Cell. 1993. V. 75. P. 843-854.
Lei H., Lin J., Fukushige T., et al. Caudal PAL-1 directly activated the bodywall module regulator hlh-1 in C. elegans to initiate the embryonic muscle gene regulatory network // Development. 2009. V. 136. P. 1241-1249.
Leidfiield-Rutledge L. Gene expression during early embryonic development // J. Anim. Sci. 1996. V. 74. P. 36-49.
Leonova T.B. Permian ammonoids: classification and phylogeny // Paleontol. J. 2002. V. 36. Suppl. 1. P. S1–S114.
Lerit D.A., Gavis E.R. Transport of germ plasm on astral microtubules directs germ cell development in Drosophila // Curr. Biol. 2011. V. 21. P. 439–448.

Levenson J.M. O'Riodan K.L., Brown K.D. et al. Regulation of histone acetylation during memory formation in the hippocampus // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 40545-40559.
Levine M., Tjian R. Transcription regulation and animal diversity // Nature. 2003. V. 424. P. 147–151.
Levine M., Davidson E.H. Gene regulatory networks for development // Proc. Nat. Acad. Sci. 2005. V. 102. P. 4936-4942.
Levinton J.S. The cambrian explosion: How do we use the evidence? // BioScience. 2008. V. 58. P. 855-864.
Levit G.S. The roots of Evo-Devo in "Russian tradition"? // Theory Biosci. 2007. V. 126. P. 131-48
Lewin D. Genes. V. Oxford: Oxford Univ. Press. 1994.
Lewin D. Genes. VII. Oxford., N.Y.: Oxford Univ. Press. 2000. P. 685-718.
Lewis E.B. A gene complex controlling segmentation in *Drosophila* // Nature. 1978. V. 276. P. 565-570.
Lewis E.B. Clusters of master control genes regulate the development of higher organisms // J. Amer. Med. Assoc. 1992. V. 267. P. 1524-1531.
Lewis J., Yanisch A., Holder M. Notch signaling, the segmentation clock, and the patterning of vertebrate somites // J. Biol. 2009. V. 8. P. 44.
Li E., Bestor T.H., Jaenisch R. Targeted mutation of DNAmethyltransferase gene results in embryonic lethality // Cell. 1992. V. 69. P. 915-926.
Li J., Liu Y., Xin X. et al. Evidence for positive selection on a number of microRNA regulatory interactions during recent human evolution // PLoS Genet. 2012. 8(3): e1002578.
Li J., Zhao G., Gao X. Development of neurodevelopmental disorder: a regulatory mechanism involving bromodomain-containing proteins // J. Neurodev. Disord. 2913. 5(1).
Li R., Bowerman B. Symmetry breaking in biology / Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2010. V. 2. a003475.
Li W.H. Molecular Evolution. Sinauer. 1997.
Li W.H., Gu Z, Wang H, Nekrutenko A. Evolutionary analysis of the human genome // Nature. 2001. V. 409. P. 847-849.
Liberski P.P., Brown D.R., Sikorska B. et al. Cell death and autophagy in prion disease (transmissible spongioform encephalopathies) // Folia Neuropathol. 2008. V. 46. (1). P. 1-25.
Lim A.K., Kai T. Unique germ-line organelle, nuage, functions to repress selfish genetic elements in *Drosophila melanogaster* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2007. V. 104. P. 6714-6719.
Lippman Z. May B., Yordan C. et al. Distinct mechanisms determine transposon inheritance and methylation via small interfering RNA and histone modification // PLoS Biol. 2003. V. 1. P. e67.
Liu L., van Groen T., Kadish I. et al. DNA methylation impacts on learning and memory in aging // Neurobiol. Ageing. 2009. V. 30(4). P. 549-560.
Liu L., Wylie R.C., Andrews L.G. et al. Aging, cancer and nutrition: the DNA methylation connection // Mech. Ageing Dev. 2003 V. 124. P. 989-998.
Lloyd V. Parental imprinting in *Drosophila* // Genetics. 2000. V. 109. P. 35-44.
Lohman J.U. Plant stem cells: divide et impera // Stem Cells. From Hydra to Man / Ed. Bosch Th.C.G. Springer Science. 2008. P. 1-15.
Lohs-Shardin M. Dicephalic – a Drosophila mutant affecting polarity in follicle organization and embryonic patterning // W. Roux' Arch. Devel. Biol. 1982. V. 191. P. 28-36.

Lopez A.J. Developmental role of transcription factor isoforms generated be alternative splicing // Devel. Biol. 1995. V. 172. P. 396-411.
Loughry W.C., Prodцhl P.A., McDonough C.M., Avise J.C. Polyembryony in armadillos // Amer. Scientist. 1998. V. 86. P. 274-279.
Love A.C. Morphological and paleontological perspectives for a history of Evo-Devo / In: From embryology to Evo-Devo. Eds. Laubichler M.D., Maienschein J. The MIT Press: Cambridge, London. 2007. P. 267-307.
Luo Z.-X., Chen P., Li G., Chen M. A new eutriconodont mammal and evolutionary development in early mammals // Nature. 2007. V. 446. P. 288-293.
Lutz B., Lu H.C., Eichele G. et al. Rescue of Drosophila labial null mutant by the chicken ortholog Hoxb-1 demonstrates hat the function of Hox genes is phylogenetically conserved // Gen. Devel. 1996. V. 10. P. 176-184.
Lynch M., Conery J.S. The evolutionaty fate and consequences of duplicated genes // Science. 2000. V. 290. P. 1151-1154.
Lysiak J.J., Han V.K., Lala P.K. Localization of transforming growth factor alpha in the human placenta and decidua: Role in trophoblast growth // Biol. Reprod. 1993. V. 49. № 5. P. 885-894.
MacArthur R.H., Wilson E.O. Geographical ecology. Princeton: Princeton Univ. Press. 1967. 203 p.
Mahowald A.P. Assembly of the *Drosophila* germ plasm // Intern. Rev. Cytol. 2001. V. 203. P. 187-213.
Makeyev E.V., Maniatis T. Multilevel Regulation of Gene Expression by MicroRNAs // Science. 2008. V. 319. P. 1789 – 1790.
Makino T, Hokamp K, McLysaght A. The complex relationship of gene duplication and essentiality // Trends Genet. 2009. V. 25. P. 152-155.
Mandelbrot B.B. The fractal geometry of nature. NY.: Freeman. 1983. 468 p.
Manuel M. Early evolution of symmetry and polarity in metazoan body plans // C. R. Biol. 2009. V. 332. P. 184-209.
Marco A., Ninova M., Griffiths-Jones S. Multiple products from microRNA transcripts // Biochem. Soc. Transact. 2013. V. 41. Part 4. P. 850-854.
Margueron R., Trojer P., Reinberg D. The key to development: interpreting the histone code? // Curr. Opin. Genet. Dev. 2005. V. 15. P. 163-176.
Margulis L. Symbiosis in Cell Evolution. NY.: Freeman. 1981.
Mark M., Rijli F.M., Chambon P. Homeobox genes in embryogenesis and pathogenesis // Pediatr. Res. 1997. V. 42. P. 421-429.
Martin C., Zhang Y. The diverse functions of histone lysine metthylation // Nature Rev. Mol. Biol. 2005. V. 6. P. 838-849.
Martindale M.Q., Hejnol A. A developmental perspective: Changes in the position of the blastopore during bilaterian evolution // Devel. Cell. 2009. V. 17. P. 162-171.
Martin-Duran J.M., Jansson R., Wennberg S. et al. Deuterostomic development in the protostome *Priapulus caudatus* // Current Biol. 2012. V. 22. P. 2161-2166.
Martynov A.V. Ontogenetic systematics: the synthesis of taxonomy, phylogenetics, and evolutionary developmental biology. Paleontol. J. 2012. V. 46. P. 833-864.
Matova N., Cooley L. Comparative aspects of animal oogenesis. Develop. Biol. 2001. V. 16. P. 1-30.
Mavilio F. et al. Molecular mechanisms for human hemoglobin switching: Selective undermethylation and expression of globin genes in embryonic, fetal, and adult erythroblasts // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1983. V. 80. P. 6907-6911.

Mayr E. Animal species and evolution. Harvard Univ. Press: Cambridge. 1963.
McGee J.D., Ginder G.D. Specific DNA methylatyion sites in the vicinity of the chicken beta-globin genes // Nature. 1979. V. 280. P. 419-420.
McGinnis W., Krumlauf R. Homeobox genes and axial pattering // Cell. 1992. V. 68. P. 283-302.
McGowan R.A., Martin C.C. DNA methylation and genome imprinting in the zebrafish, *Danio rerio*: Some evolutionary ramifications // Biochem. Cell Biol. 1997. V. 75. P. 499-506.
McNamara K.J. Shapes of Time: The Evolution of Growth and Development. Baltimore: Johns Hopkins Univ. Press. 1997.
McNamara K.J. A guide to the nomenclature of heterochrony // J. Paleontol. 1986. V. 60. P. 4-13.
McNamara K.J. Changing times, changing places: heterochrony and heterotopy // Paleobiology. 2002. V. 28. P. 551–558.
Medvedev S.P., Grigor'eva E.V., Shevchenko A.I. et al. // Stem cells Dev. 2011. V. 20. № 6. P. 1099-1112.
Meedel T.H., Lee J.J., Whittaker J.R. Muscle development and lineage-specific expression of CiMDF, the MyoD-family gene of *Ciona intestinalis* // Dev. Biol. 2002. V. 241. P. 238-246.
Mehler, M.F., Mattick J.S. Noncoding RNAs and RNA editing in brain development, functional diversification, and neurological disease // Physiol. Rev. 2007. V. 87. P. 799–823.
Meinhardt H. Models of biological pattern formation. London: Acad. Press. 1982.
Mello C.C., Conte D., Jr. Revealing the world of RNA interference // Nature. 2004. V. 431. № 7006. P. 343-349.
Merabet S., Sambrani N., Pradel J., Graba Y. Regulation of Hox activity: insight from protein motif / Hox Genes: Studies from the 20th to the 21st Century. Ed. Deutsch J.S. Ny.: Springer Science+Business Media, LLC Landes Bioscience. 2010. P. 3-16.
Mermoud J.E., Popova B., Peters A.H. et al. Histone H3 lysine 9 methylation occurs rapidly at the onset of random X chromosome inactivation // Curr. Biol. 2002. V. 12. P. 247-251.
Methyl-CpG binding protein MBD1 couples histone H3 methylation at lysine 9 by SETD-BI to DNA replication and chromatin assembly // Molec. Cell. 2004. V. 15. P. 595-605.
Metzger R.J., Krasnow M.A. Genetic control of branching morphogenesis // Science. 1999. V. 284. P. 1635-1639.
Meyer A., Malaga-Trillo E. Vertebrate genomics: more fishy tales of Hox genes // Curr. Biol. 1999. V. 9. P. 1517-1521.
Meyer A., Van der Peer Y. eds. Genome evolutions: Gene and genome duplications and the origin of novel gene functions. Dordrecht. Kluwer Acad. 2003.
Meyerowitz E.M. Plants compared to animals: The broadest comparative study of development // Science. 2002. V. 295. P. 1482-1484.
Michelisch M.D., Weissman J.S. A sensus of glutamine/asparagines-rich regions: Implications for their conversed function and the prediction of novel prions // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. V. 97. P. 11910-11915.
Miller C.A., Gavin C.F., White J.A. et al. Cortical DNA methylation maintains remote memory // Nat. Neurosci. 2010. V. 13 (6). P. 664-666.
Miller D.J., Ball E.E. The gene complement of the ancestral bilaterian – was Urbilateria a monster? // J. Biol. 2009. V. 8. P. 89.
Miller S. E., Hadfield M.G. Developmental arrest during larval life and life-span extension in a marine mollusc // Science. 1990. V. 248. P. 356-358

Millonig G. Blastomere reagregation // In: The urchin embryo. Ed. Czihakb G. Berlin, NY.: Springer Verlag. 1975. P. 407-423.
Minelli A. Limbs and tail as evolutionarily diverging duplicates of the main body axis // Evol. Devel. 2000. V. 2. P. 157-165.
Minelli A. Dream islands and island dreams // Biodiversity J. 2012. V. 3. P. 267-272.
Minelli A. EvoDevo and its significance for animal evolution and phylogeny // Evol. Devel. Biol. Invertebr. Ed. Wanninger A. V. 1. Wien.: Springer. 2015a. P. 1-24.
Minelli A. Morphological misfits and the architecture of development / Macroevolution: Explanation, Interpretation and Evidence. Eds. Serrelli E., Gontier N. Heidelberg: Springer. 2015b. P. 329-343.
Minelli A. The development of animal form. Ontogeny, morphology, and evolution / Cambridge Univ. Press: Cambridge: 2003. 323 p.
Minoux M., Rijli F.M. Molecular mechanisms of cranial neural crest cell migration and patterning in craniofacial development // Development. 2010. V. 137. P. 2605–2621.
Mintz B. Continuity of the female germ cell line from embryo to adult // Archiv Microsc. Morphol. 1959. V. 48. P. 155–172.
Mochizuki K., Nishimiya-Fujisawa C., Fujisawa T. Expression and evolutionary conservation of *nanos*-related genes in Hydra // Devel. Gen. Evol. 2000. V. 210. P. 591–602.
Mochizuki K., Nishimiya-Fujisawa C., Fujisawa T. Universal occurrence of the *vasa*-related genes among metazoans and their germline expression in Hydra development // Gen. Evol. 2001. V. 211. P. 299-308.
Modrek B., Lee C. A genomic view of alternative splicing // Nature Genet. 2002. V. 30. 13-19.
Modularity: Understanding the Development and Evolution of Natural Complex Systems. Eds. Callebaut W., Rasskin-Gutman D. The Vienna Series in Theoretical Biology. London: The MIT Press. 2005. 455 p.
Monk M., Boubelik M., Lehnert S. Temporal and regional changes in DNA methylation in the embryonic, extraembryonic and germ cell lineages mouse embryo development // Development. 1987. V. 99. P. 371-382.
Monk D. Germine-derived DNA methylation and early embryo epigenetic reprogramming: The selected survival of imprints // Int. J. Biochem. Cell Biol. 2015. V. 41. P. 128-138.
Monteiro A.S., Ferrier D.E.K. Hox genes are not always colinear // Int. J. Biol. Sci. 2006. V. 2. P. 95-103.
Montgomery M.K., Fire A. Double-stranded RNA as a mediator in sequence-specific genetic silencing and cosuppression // Trends Genet. 1998. V. 14(7). P. 255-258
Mooi R., David B. Radial symmetry, the anterior/posterior axis, and echinoderm Hox genes // Ann. Rev. Ecol. Evol. S. 2008. V. 39. P. 43–62.
Moore T., Haig D. Genomic imprinting in mammalian development: a parental tug-of war // Trends Genet. 1991. V. 7. P. 45-49.
Morgan H. et al. Activation-induced cytidine deaminase deaminates 5-methylcytosine in DNA and is expressed in pluripotent tissues // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 52353-52360.
Morgan R. *Hox* genes: a continuation of embryonic patterning? // Trends Genetics. 2006. V. 22. P. 67-69.
Morgan T.H. Experimental Embryology. N.Y.: Columbia Univ. Press. 1927. 766 p.
Moser E.I., Kropff E., Moser M.B. Place cells, grid cells, and the brain's spatial representation system // Ann. Rev. Neurosci. 2008. V. 31. P. 69-89.

Mouchel-Vielh E., Rigolot C., Gibert J.-M., Deutsch J.S. Molecules and body plan: the *Hox* genes of Cirripedes (Crustacea) // Molec. Phylogen. Evol. 1998. V. 9. P. 382-389.
Müller F., Brissac T., Le Bris N., Felbeck H., Gros, O. First description of giant Archaea (Thaumarchaeota) associated with putative bacterial ectosymbionts in a sulfidic marine habitat // Environ. Microbiol. 2010. V. 12. P. 2371-2383.
Müller G.B. Evo-devo as a discipline / Evolving Pathways: Key Themes in Evolutionary Developmental Biology. Eds. Minelli A., Fusco G. Cambridge, New York e.a.: Cambridge University Press. 2008. P. 5-30
Müller J., Scheyer T.M., Head J.J. et al. Homeotic effects, somitogenesis and the evolution of vertebral numbers in recent and fossil amniotes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. V. 107. P. 2118–2123.
Müller W.E.G. The stem cell concept in sponges (Porifera): Metazoan traits, // Semin. Cell Devel. Biol. 2006. V. 17. P. 481-491.
Mullins R.D. Cytoskeletal mechanisms for breaking cell symmetry / Cold Spring Harbor Perspect. Biol. 2009. cshperspect.a003392. P. 1-16.
Munro E., Bowerman B. Cellular symmetry breaking during *C. elegans* development / Cold Spring Harbor Perspect. Biol. 2009. cshperspect. a003400.
Münsterberg A. E., Kitajewski J., Bumcrot D. A., et al., Combinatorial signaling by Sonic hedgehog and Wnt family members induces myogenic bHLH gene expression in the somite // Genes Dev. 1995. V. 9. P. 2911-2922.
Münsterberg A. E., Lassar A. B. Combinatorial signals from the neural tube, floor plate and notochord induce myogenic bHLH gene expression in the somite // Development. 1995. V. 121. P. 651-660.
Muragaki Y., Mundlos S., Upton J., Olsen B.R. Altered growth and branching patterns in synpolydactyly caused by mutations in HOXD13 // Science. 1996. V. 272. P. 548-551.
Murray J., Clarke B. The inheritance of polymorphic shell characters in *Partula* (Gastropoda) // Genetics. 1966. V. 54. P. 1261-1277.
Murray, J.D. Mathematical Biology. Third edition, Berlin. Springer Verlag. 2003.
Nagy L.M., Williams T.A. Comparative limb development as a tool for understanding the evolutionary diversification of limbs in arthropods: Challenging the modularity paradigm / The Character Concept in Evolutionary Biology / Wagner G.P., Ed. San Diego: Acad. Press. 2001. P. 455–488.
Nakamura A., Seydoux G. Less is more: specification of the germline by transcriptional repression // Development. 2008. V. 135. P. 3817-3827.
Nardmann J., Reisewitz P. Werr W. Discrete Shoot and Root Stem Cell-Promoting *WUS/WOX5* Functions Are an Evolutionary Innovation of Angiosperms // Mol. Biol. Evol. 2009. V. 26. P. 1745-1755.
Naruse K. Fukamachi S., Mitani H. et al., A detailed linrage map of medaka *Oryzias latipes*. Comparative genomics and genome evolution // Genetics. 2000. V. 154. P. 1773-1784.
Needham J. On the dissociability of the fundamental processes in ontogenesis // Biol. Rev. 1933. V. 8. P. 180-223.
Newport J., Kirschner M. A major developmental transition in early Xenopus embryos. 1. Characterization and timing of cellular changes at the mid-blastula stage // Cell. 1982. V. 30. P. 675-686.
Ng M., Yanofsky M.F. Function and evolution of the plant MADS-box gene family // Nature Rev. Genet. 2001. V. 2. P. 186-195.
Ngu R.K., Dean W., Dawson C. et al. Epigenetic restriction of embryonic cell lineage fate by methylation of Elf5 // Nature Cell Biol. 2008. V. 10. № 11. P. 1280-1290.

Nielsen C. Animal Evolution: Interrelationships of the Living Phyla. 3rd Edition. NY.: Oxford Univ. Press. 2012. 402 p.
Nielsen C. Larval and adult characters in animal phylogeny // Amer. Zool. 1994. V. 34. P. 492-501.
Nielsen C. Life cycle evolution: was the eumetazoan ancestor a holopelagic, planktotrophic gastraea? // BMC Evol. Biol. 2013. V. 13. P. 171.
Nielsen C. Ontogeny of the spiralian brain / In: Evolving Pathways. Key Themes in Evolutionary Developmental Biology. Eds. Minelli A., Fusco G. Cambridge.: Cambridge Univ. Press. 2008. P. 399-416
Nielsen C. Ontogeny of the spiralian brain / In: Evolving Pathways. Key Themes in Evolutionary Developmental. Biology. Eds. Minelli A., Fusco G. Cambridge e a.: Cambridge Univ. Press. 2008. P. 399-416.
Nielsen C. Origin and evolution of animal life cycles // Biol. Rev. 1998. V. 73. P. 125-155.
Nielsen P.R., Nietlispach D. Mott H.R. et al., Structure of the HP1 chromodomain bound to histone H3 methylated at lysine 9 // Nature.2002. V. 416. P. 103-197.
Niwa H., Miyazaki J., Smith A.G. Quantitanive expression of *Oct-3/4* defines differentiation of self-renewal of ES cells // Nat. Genet. 2000. V. 24. P. 372-376.
Noda K., Kanai C. An ultrastructural observation of *Pelmatohydra robusta* at sexual and asexual stages, with a special reference to “germinal plasm” // J. Ultrastr. Res. 1977. V. 61. P. 284–294.
Norris D.P., Patel D., Kay G.F. et al. Evidence that random and imprinted *Xist* expression is controlled be preemptive methylation // Cell. 1994. V. 77. P. 41-51.
Nothias J.-Y., Majumder S., Kaneko K.J., DePamphilis M.L. Regulation of Gene Expression at the Beginning of Mammalian Development // J. Biol. Chem. 1995. V. 270. P. 22077-22080.
Novak S.J. Corces V.G. Phosphorylation of histone H3: A balancing act between chromosome condensation and transcriptional activation // Trends Genet. 2004. V. 20. P. 214-220.
Nowak M.A., Boerlijst M.C., Cooke J. et al. Evolution of genetic redundancy // Nature. 1997. V. 388. P. 167-171.
Novikova E.L., Bakalenko N.I., Nesterenko A.Y., Kulakova M.A. // Expression of Hox genes during regeneration of nereid polychaete *Alitta (Nereis) virens* (Annelida, Lophotrochozoa). EvoDevo. 2013. V.4. P.14.
Nuccitelli R. The involvement of transcellular ion currents and electric fields in pattern formation // In: Pattern Formation. A Primer in Developmental Biology. Eds. Malacinski G.M., Bryant S.V. London: MacMillan. 1984. P. 23-46.
Nussbaum M. Zur Differenzirung des Geschlechts im Thierreich // Archiv fьr Mikroskopy und Anatomy. 1880. Band 18. S. 1-121.
Nьsslein-Volhard C. Determination of the embryonic axes of *Drosophila* // Development. 1991. Suppl. 1. P. 1-10.
Nьsslein-Volhard C., Wieschaus E. Mutations affecting segment number and polarity // Nature. 1980. V. 287. P. 795-801.
O’Keefe J. Place units in the hippocampus of the freely moving rat // Exp. Neurol. 1976. V. 51. P. 78–109.
Oates A.C., Morelli L.G., Ares S. Patterning embryos with oscillations: structure, function and dynamics of the vertebrate segmentation clock // Development. 2012. V. 139. P. 625–639.
Ohno S. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1982. V. 79. P. 1999-2002.

Ohno S. Evolution by gene duplication. Berlin. Springer Verlag. 1970.
Okamoto I., Otte A.P., Allis C.D. et al. Epigenetic dynamics of imprinted X inactivation during early mouse development // Science. 2004. V. 303. № 5658. P. 644-649.
Okano M., Bell D.W., Haber D.A. et al. // Cell. 1999. V. 99. P. 247-257.
Oliveri P., Davidson E.H. Gene regulatory network controlling embryonic specification in the sea urchin // Curr. Opin. Genet. Devel. 2004. V. 14. P. 351–360.
Oliveri P., Qiang T., Davidson E.H. Global regulatory logic for specification of an embryonic cell lineage // Proc Natl Acad Sci USA. 2008. V. 105. P. 5955–5962.
Olsen L.A., Choffnes E.R., Mack A. Eds. The Social Biology of Microbial Communities*:* Workshop Summary. Washington, DC: The National Acad. Press. 2012.
Olson E.N. Interplay between proliferation and differentiation within the myogenic lineage // Dev. Biol. 1992. V. 154. P. 261–272.
Olson E.N. Interplay between proliferation and differentiation within the myogenic lineage // Dev. Biol. 1992. V. 154. P. 261–272.
Olson E.N., Klein W.H. bHLH factors in muscle development: dead lines and commitments, what to leave in and what to leave out // Gen. Dev. 1994. V. 8. P. 1–8.
Onai T., Irie N., Kuratani S. The evolutionary origin of the vertebrate body plan: The problem of head segmentation // Ann. Rev. Genomics Hum. Genet. 2014. V. 15. P. 443–59.
Orii H., Sakurai T., Watanabe K. Distribution of the stem cells (neoblasts) in the planarian *Dugesia japonica* // Develop., Gen. Evol. 2005. V. 215. P. 143–157.
Oster G.F., Murray J.D., Harris A.K. Mechanical aspects of mesenchymal morphogenesis // J. Embryol. Exp. Morphol. 1983. V. 78. P. 83-125.
Oster G.F., Shubin N., Murray J.D., Alberch P. Evolution and morphogenetic rules: The shape of vertebrate limb in ontogeny and phylogeny // Evolution. 1988. V. 42. P. 862–884.
Ota T., Nei M. Evolution of immunoglobulin VH pseudogenes in chickens // Mol. Biol. Evol. 1995. V. 12(1). P. 94-102.
Otto S.P., Yong P. The evolution of gene duplicates // Adv. Genet. 2002. V. 46. P. 451-483.
Oyama A., Shimizu T. Transient occurrence of vasa-expressing cells in nongenital segments during embryonic development in the oligochaete annelid *Tubifex tubifex* // Dev. Genes Evol. 2007. V. 217. P. 675-90.
Ozernyuk N.D. Evolutionary mechanisms: modularity, morphogenetic fields, gene regulation // Paleontol. J. 2015. V. 49. P. 1524-1529.
Ozernyuk N.D., Klyachko O.S., Polosukhina E.S. Acclimation temperature affects the functional and structural properties of lactate dehydrogenase from fish (*Misgurnus fossilis*) skeletal muscles // Comp. Biochem. Physiol. 1994. V. 107B. № 1. P. 141-145.
Ozernyuk N.D., Zotin A.I., Yurowitzky Yu.G. Deviation of living system from the stationary state during oogenesis // Wilhelm Roux' Archiv. 1973. V. 172. P. 66-74.
Ozernyuk N.D., Dyomin V.I., Prokofyev E. A., Fndrosova I.M. Energy gomeostasis and developmental stability // Developmental stability in natural populations. In: Acta zoological fennica. 1992. V. 191. P. 167-175.
Ozernyuk N., Mugue N., Zakhartsev M. Role of gene duplication in adaptation: differential expression of paralogus LDH-A genes during temperature acclimation of tetraploid weatherfish *Misgurnus fossilis* / Abstr. XX Intern. Congr. Genetics. Berlin. Germany. 2008. P. 82.
Pan Q., Shai O., Lee L.J. et al. Deep surveying of alternative splicing complexity in the human transcriptome by high-throughput sequencing // Nature Genetics. 2008. V. 40. P. 1413-1415.

Pancer Z., Gershon H., Rinkevich B. Coexistence and possible parasitism of somatic and germ cell lines in chimeras of the colonial urochordate *Botryllus schlosseri* // Biol. Bul. 1995. V. 189. P. 106-112.

Pawnal M.E., Emerson C.P. Sequential activation of three myogenic regulatore genes during somite morphogenesis in quail embryos // Devel. Biol. 1992. V. 151. P. 67-74.

Papageorgiou S. Ed. Hox gene expression. NY.: Springer, Landes Bioscience. 2007. 148 p.

Pardue M.L., DeBaryshe P.G. Telomeres and telomerase; more than the end of the line // Chromosoma. 1999. V. 108. P. 73-82.

Park S., Harada J.J. Arabidopsis embryogenesis / Plant Embryogenesis. Suбres M.F., Bozhkov P.V. Eds. Totowa. NY: Springer Science+Business Media. 2008. P. 3-16.

Parrish J.K., Edelstein-Keshet L. Complexity, pattern, and evolutionary trade-off in animal aggregation // Science. 1999. V. 284. P. 99-101.

Parrish J.K., Viscido S.V., Grьnbaum D. Self-organized fish schools: an examination of emergent properties // Biol. Bull. 2002. V. 202. P. 296-305.

Pascual-Anaya J., Adachi N., Alvarez S. et al. Broken colinearity of the amphioxus Hox cluster // Evo Devo. 2012. V. 3. P. 28.

Pasquinelli A.E., Hunter S., Bracht J. MicroRNAs: a developing story // Curr. Opin. Genet. Devel. 2005. V. 15. P. 200–205.

Pasquinelli A.E., MicroRNAs and their targets: recognition, regulation and an emerging reciprocal relationship // Nat. Rev. Genet**.** 2012. V. 13. P. 271–282,

Pasquinelli A.E., Ruvkun G. Control of developmental timing by microRNAs and their targets // Ann. Rev. Cell Dev. Biol. 2002. V. 18. P. 495–513.

Paulay G., Meyer C. Dispersal and divergence across the greatest ocean region: Do larvae matter? // Integr. Compar. Biol. 2006. V. 46. P. 269-281.

Penkov L.I., Platonov E.S., New D.A.T. Effects of fibroblast growth factor 2 and insulin-like growth factor II on the development of parthenogenetic mouse embryos *in vitro* // In vitro Animal. 2001. V. 37. P. 440-444.

Pennisi E. Genome duplications: The stuff of evolution? // Science. 2001. V. 294. P. 2458-2460.

Penrose R. The topology of ridge systems // Ann. Hum. Genet. London. 1979. V. 42. P. 435-444.

Perez C. Cycle évolutif des Rhizocéphales du genre Chlorogaster // Arch. Zool. Italiano. 1931. V. 26 (Atti Dell' XI Congreso Internazionale di Zoologia). P. 1319-1328.

Peter I.S., Davidson E.H. Evolution of gene reulatory networks controlling body plan development // Cell. 2011. V. 144. P. 970-985.

Peter R., Ladurner P., Rieger R.M. The role of stem cell strategies in coping with environmental stress and choosing between alternative reproductive modes: turbellaria rely on a single cell type to maintain individual life and propagate species // Marine Ecol. 2001. V. 22. P. 35-51.

Peterson K.J., Cameron R.A., Davidson E.H. Bilaterian origins: Significance of new experimental observations // Dev. Biol. 2000. V. 219. P. 1–17.

Peterson K.J., Davidson E.H. Regulatory evolution and the origin of the bilaterians // Proc. Natl .Acad. Sci. USA. 2000. V. 97. P. 4430–4433.

Peterson K.J., Dietrich M.R., McPeek M.A. MicroRNAs and metazoan macroevolution: insights into canalization, complexity, and the Cambrian explosion // Bioassays. 2009. V. 31. P. 736-747.

Peterson K.J., Eernisse D.J. Animal phylogeny and the ancestry of bilaterians: inference from morphology and 18S rDNA gene sequences // Evol. Devel. 2001. V. 3. P. 170-205.

Peterson K.J., Eernisse D.J. The phylogeny, evolutionary developmental biology, and paleobiology of the Deuterostomia: 25 years of new techniques, new discoveries, and new ideas // Org. Divers. Evol. 2016. V. 16. P. 401–418.

Pianka E.R. On *r*- and *K*-selection // Amer. Natur. 1970. V. 104. P. 592–597.

Picheral B., Charbonneau M. Anuran fertilization: A morphological reinvestigation of some early events // J. Ultrastr. Res. 1982. V. 81. P. 306-321.

Pierce R.J.,Wu W., Hirai H. et al. Evidence for a dispersed Hox gene cluster in the platyhelminth parasite *Schistosoma mansoni* // Mol. Biol. Evol. 2005. V. 22. P. 2491–2503.

Pineda J., Hare J.A., Sponaugle S. Larval transport and dispersal in the coastal ocean and consequences for population connectivity // Oceanogr. 2007. V. 20. P. 23-39.

Plasterk R.H.A. RNA silencing: genomes immune system // Science. 2002. V. 296. P. 1263-1265.

Pokholok D.K., Harbison C.T., Levine S. et al. Genomewide map of nucleosome acetylation and methylation in yeast // Cell. 2005. V. 122. P. 517-527.

Pokrywka N.J., Stephenson E.C. Microtubules mediates the localization of bicoid RNA during Drosophila oogenesis // Development. 1991. V. 113. P. 55-66.

Pollwein P., Masters C.L., Beyreuther K. The expression of the amyloid precursor protein (APP) is regulated by two GC-elements in the promoter // Nucleic Acids Res. 1992. V. 20. P. 63-68.

Por F.D. The persistent progression: a new view on animal evolution // The New Panorama of Animal Evolution. Eds Legakis A., Sfenthourakis S., Polymeni R., Thessalou-Legaki M. Sofia. Moscow: Pensoft. 2003. P. 27-39.

Potthoff M.J., Olson E.N. 2007. MEF2: a central regulator ofdiverse developmental programs // Development. 2007. V. 134. P. 4131-4140.

Pownall M. E., Emerson, C. P. Sequential activation of three myogenic regulatory genes during somite morphogenesis in quail embryos // Dev. Biol. 1992. V. 151. P. 67–79.

Presnov E., Isaeva V., Kasyanov N. Topological determination of early morphogenesis in Metazoa // Theory in Bioscience. 2010. V. 129. P. 259-270.

Presnov E., Isaeva V., Kasyanov N. Topological invariance of biological development // Axiomathes. 2014. V. 24. P. 117–135.

Prodöhl P., Loughry W.J., McDonough C.M. et al. Molecular documentation of polyembryony and the micro-spatial dispersion of clonal sibships in the nine-banded armadillo, *Dasypus novemcinctus* // Proc. Royal Soc. London. Ser. B. 1996. V. 263. P. 1643-1649.

Prpric N., Damen W. Arthropod appendages: a prime example for the evolution of morphological diversity and innovation / In: Evolving Pathways. Key Themes in Evolutionary Developmental Biology. Eds. Minelli A., Fusco G. Cambridge e a.: Cambridge Univ. Press. 2008. P. 381-398.

Prusiner S.B. Inherited prion diseases // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994. V. 91. P. 4611-4614.

Prusiner S.B. Prions // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 13363-13383.

Pueyo J. I., Lanfear R., Couso J. P. Ancestral Notch-mediated segmentation revealed in the cockroach *Periplaneta americana* // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 2008. V. 105. P. 16614–16619.

Push O. Boden D., Silbermann R. et al. Nucleotid homology requirements of HIV-1 specific short hairpin of siRNA // Nucleic Acid Res. 2003. V. 31. P. 6444-6449.

Putnam N.H., Butts T., Ferrier D.E.K. et al. The *Amphioxus* genome and the evolution of the chordate karyotype // Nature. 2008. V. 453. P. 1064-1072.

Putnam N.H., Srivastava M., Hellsten U. et al. Sea anemone genome reveals ancestral eumetazoan gene repertoire and genomic organization // Science. 2007. V. 317. P. 86-94.
Quesneville H., Bergman C.M., Andrieu O. et al. Combined evidence annotation of transposable elements in genome sequences // PLoS. 2005. V. 1(2). e22.
Racila D., Winter M., Said M. // Gene Ther. 2007. V. 18. № 3. P. 294-303.
Raff E.C., Raff R.A. Dissociability, modularity, evolvability // Evol. Dev. 2002. V. 2. P. 235–237.
Raff R.A. The Shape of Life. Chicago: Univ. Chicago Press. 1996.
Raff R.A., Kaufman T.C. Embryos, Genes and Evolution. 1983.
Raff R.A., Raff E.C. Evolution in the light of embryos: seeking the origins of novelties in ontogeny. In: Form and Function in Developmental Evolution. Eds. Laubichler M.D., Maienschein J. Cambridge.: Cambridge Univ. Press. 2009. P. 83-111.
Raff R.A., Sly B.J. Modularity and dissociation in the evolution of gene expression territories in development // Evol. Devel. 2000. V. 2. P. 102-113.
Raff R.A., Wray G.A. Heterochrony: developmental mechanisms and evolutionary results // J. Evol. Biol. 1989. V 2. P. 409–434.
Rainey P.B., Kerr B. Cheats as first propagules: A new hypothesis for the evolution of individuality during the transition from single cells to multicellularity / The Social Biology of Microbial Communities / Eds. L.A. Olsen, E.R. Choffnes, et al. Washington: The National Acad. Press. 2012. P. 409-425.
Rasnitsyn A.P. Epigenetic theory of evolution in brief // Botanica Pacifica. 2015. V. 42. N 2. P. 5-8.
Rasskin-Gutman D. Modularity: Jumping forms within morphospace / Modularity: Understanding the Development and Evolution of Natural Complex Systems. Eds. Callebaut W., Rasskin-Gutman D. The Vienna Series in Theoretical Biology. London: The MIT Press. 2005. P. 207-220.
Rasskin-Gutman D., Izpisъa-Belmonte J.C. Theoretical morphology of developmental asymmetries // BioEssays. 2004. V. 26. P. 405–412.
Rassoulzadegan M. et al. RNA-mediated non-mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse // Nature. 2006. V. 441. P. 469-474.
Raup D.M. Geometric analysis of shell coiling: general problems. // J. Paleontol. 1966. V. 40. P. 1178–1190.
Rawls A., Olson E.N. MyoD meets its maker // Cell. 1997. V. 89. P. 5-8.
Raz E. The function and regulation of the *vasa*-like genes in germ-cell development // Genome Biology. 2000. V. 3. P. 1017.1-1017.6.
Rebscher N., Lidke A.K., Ackermann C.F. Hidden in the crowd: primordial germ cells and somatic stem cells in the mesodermal posterior growth zone of the polychaete *Platynereis dumerillii* are two distinct cell populations // Evo Devo. 2012. V. 3. P. 1-10.
Reima I., Lehtonen E. 1985. Localization of nonerythroid spectrin and actin in mouse oocytes and preimplantation embryos // Differentiation. V. 30. P. 65-75.
Reinhart B.J., Slack F.J., Basson M. et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans* // Nature. 2000. V. 408. P. 86-89.
Reyes J.C., Hennig L., Gruissem W. Chromatin-remodeling and memory factors. New regulators of plant development // Curr. Biol. 2006. V. 16. P. R546-R548.
Reznick D., Bryant M.J., Bashey F. *r*- and *K*-selection revisited: The role of population regulation in life-history evolution // Ecology. 2002. V. 83. P. 1509-1520.
Rhodes S. J., Konieczny S. F. Identification of MRF4: a new member of the muscle regulatory factor gene family // Genes Dev. 1989. V. 3. P. 2050–2061.

Richards E.J., Elgin S.C. Epigenetic codes for heterochromatin and silencing: rounding up the usual suspects // Cell. 2002. V. 108. № 4. P. 489-500.
Richardson M.K., Oelschlдger H.H.A. Time, pattern and heterochrony: a study of hyper-phalangy in the dolphin embryo flipper // Evo Dev. 2002. V. 4. P. 435–444.
Richardt S., Lang D., Reski R. et al. PlanTAPDB, a phylogeny-based resource of plant transcription-associated proteins // Plant Physiol. 2007. V. 143. P. 1452-1466.
Ricklefs R.E. Ecology. London: Nelson. 1973.
Rinkevich B. Stem cells: autonomy interactors that emerge as causal agents and legitimate units of selection / In: Stem Cells in Marine Organisms. Eds. Rinkevich B., Matranga V. Dordrecht, Heidelberg, London, NY.: Springer. 2009. P. 1-20.
Rinkevich Y., Matranga V., Rinkevich B. Stem cells in aquatic invertebrates: common premises and emerging unique themes. In: Stem Cells in Marine Organisms. Eds. Rinkevich B., Matranga V. Springer: Dordrecht, Heidelberg, London, NY. 2009. P. 61-104.
Rinn J.L., Kertesz M., Wang J.K. et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs // Cell. 2007. V. 129. P. 1311-1123.
Robertson E.J. Insulin-like growth factors, imprinting and embryonic growth control // Semin. Devel. Biol. 1995. V. 6. P. 293-299.
Robzyk K., Recht J., Osley M.A. Rad6-dependent ubiquitination of histone H2B in yeast // Science. 2000. V. 287. P. 501-504.
Rogaev E.I. Luriw W.J., Lavrushina O. et al. The upstream promoter of the beta amyloid precursor protein gene (APP) shows differential patterns of methylation in human brain // Genomics. 1994. V. 22. P. 340-347.
Rosa R. De, Grenier J.K., Andreeva T. et al. Hox genes in brachiodods and priapulids and protostome evolution // Nature. 1999. V. 399. P. 772-776.
Rosen J. Symmetry Rules. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 2008.
Rosner A., Moiseeva E., Rinkevich Y. et al. Vasa and the germ line lineage in a colonial urochordate // Devel. Biol. 2009. V. 331. P. 113–128.
Rost-Roszkowska M.M. Degeneration of the midgut epithelium in *Allacma fusca* L. (Insecta, Collembola, Symphypleona): Apoptosis and necrosis // Zool. Sci. 2008. V. 25. P. 753-759.
Roth S.Y., Denn J.M., Allis C.D. // Histone acetyltransferases // Ann. Rev. Biochem. 2001. V. 70. P. 81-120.
Rozhnov S.V. Morphogenesis and evolution of crinoids and other pelmatozoan echinoderms in the Early Paleozoic // Paleontol. J. 2002. V. 36. Suppl. 6. P. S525–S674.
Ruddle F.H., Bartels J.L., Bentley K.L. et al. Evolution of *HOX* genes // Ann. Rev. Genet. 1994. V. 28. P. 423-442.
Ruiz-Trillo I. What are the genomes of premetazoan lineages telling us about the origin of Metazoa? Multicellularity: Origins and Evolution. Nicklas K.J., Newman S.A. Eds. Cambridge: MIT Press. 2016. P. 171-184.
Ruiz-Trillo I., Roger A.J., Burger G. et al.A phylogenomic investigation into the origin of metazoa // Mol. Biol. Evol. 2008. V. 25. P. 664–672.
Runnegar B. Derivation of the globins from type b cetochromes // J. Mol. Evol. 1984. V. 21. P. 33-41.
Ruppert E.E. Introduction to the aschelminth phyla: A consideration of mesoderm, body cavities, and cuticle / Microscopic Anatomy of Invertebrates. Eds. Harrison F.W., Ruppert E.E. V. 4. Aschelminthes. Wiley-Liss, Inc. 1991. P. 1-17.
Ruppert E.E. Introduction: Microscopic anatomy of the notochord, heterochrony, and chordate evolution / Microscopic Anatomy of Invertebrates. Eds. Harrison F.W., Ruppert

E.E. V. 15. Hemichordata, Chaetognatha, and the invertebrate Chordata. Wiley-Liss, Inc. 1997. P. 1-13.
Rutishauser R., Grob V., Pfeifer E. Plants are used to having identity crises // Evolving pathways: Key themes in evolutionary developmental biology. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 2008. P.194-213.
Ryan J.F., Mazza M.E., Pang K. et al. Pre-bilaterian origins of the Hox cluster and the Hox code: evidence from the sea anemone, *Nematostella vectensis* // PLoS ONE. 2007. V. 1. P. 1-23.
Ryan J.F., Pang K., Schnitzler C.E. et al. The genome of the ctenophore *Mnemiopsis leidyi* and its implications for cell type evolution // Science. 2013. V. 342. doi:10.1126/science.1242592.
Sablowski R. Stem cells in plants and animals // Nature Education. 2010. V. 3. P. 4-9.
Saga Y., Takeda H. The making of the somite: molecular events in vertebrate segmentation // Nature Rev. Genet. 2001. V. 2. P. 835-845.
Salazar-Ciudad I. Making evolutionary predictions about the structure of development and morphology: beyond the neo-Darwinian and constraints paradigms / In: Evolving Pathways. Key Themes in Evolutionary Developmental Biology. Eds. Minelli A., Fusco G. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 2008. P. 31-49.
Samonte R.V., Eichler E.E. Segmentak duplications and the evolution of the primate genome // Nat. Rev. Genet. 2002. V. 3(1). P. 65-72.
Sander K. Maternal effects on insect development // Advances in Invertebrate Reproductioin / Engels W., Ed. Amsterdam: Elsevier. 1984. V. 3. P. 127-136.
Sansom R. The nature of constraints. In: Form and Function in Developmental Evolution. Eds. Laubichler M.D., Maienschein J. Cambridge e a.: Cambridge Univ. Press. 2009. P. 201-212.
Sato D., Sugimura K., Satoh D., et al., Crossveinless-c, the Drosophila homolog of tumor suppressor DLC1, regulates directional elongation of dendritic branches via down-regulating Rho1 activity // Genes Cells. 2010. V. 15(5). P. 485-500.
Sato Y., Kaneko H., Negishi S., Yazaki I. Larval arm resorption proceeds concomitantly with programmed cell death during metamorphosis of the sea urchin *Hemicentrotus pulcherrimus* // Cell Tissue Res. 2006. V. 326. P. 851-860.
Sato, K., Sugita T., Kobayashi K. et al. Localization of mitochondrial ribosomal RNA on the chromatoid bodies of marine planarian polyclad embryos // Devel. Growth Different. 2001. V. 43. P. 107–114.
Sawada T. The mechanism of ooplasmic segregation in the ascidian egg // Zool. Sci. 1988. V. 5. P. 667-675.
Sawada, T., Osanai, K. Distribution of actin filaments in fertilized egg of of the ascidian *Ciona intestinalis* // Devel. Biol. 1985. V. 111. P. 260-265.
Schatten G., Donovan P. Plane talk // Nature. 2004. V. 430. P. 301-302.
Scheltema R. S. On dispersal and planktonic larvae of benthic invertebrates: an eclectic overview and summary of problems // Bull. Marine Sci. 1986. V. 39. P. 290–322.
Scheltema R. S., Williams I. Long-distance dispersal of planktonic larvae and the biogeography and evolution of some Polynesian and Western Pacific molluscs // Bull. Marine Sci. 1983. V. 33. P. 545-565.
Schier A.F. Nodal morphogens //Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2009. 1:a003459.
Schier A.F. The maternal-zygotic transition: Death and birth of RNAs // Science. 2007. V. 316. P. 406-407.

Schierenberg E., Schulze J. Many roads lead to Rome: different ways to construct a nematode / In: Evolving Pathways. Key Themes in Evolutionary Developmental Biology. Eds. Minelli A., Fusco G. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 2008. P. 261-281.

Schierwater B., Kamm K. The early evolution of Hox genes and complexes // Evolving Pathways: Key Themes in Evolutionary Developmental Biology / Eds. Minelli A., Fusco G. Cambridge, NY.: Cambridge Univ. Press. 2008. P. 81-90.

Schmidt J., Francoise V., Bier E. et al. Drosophila short gastrulation induces an ectopic axis in *Xenopus*: Evidence for conserved mechanisms of dorsoventral pattering // Development. 1995. V. 121. P. 4319-4328.

Schmucker D., Clemens J.C., Chu H. et al. *Drosophila* Dscam is an axon guidance receptor exhibing extraordinary molecular diversity // Cell. 2000. V. 101. P. 671-684.

Scholtz G. On comparisons and causes in evolutionary developmental biology // In: Evolving Pathways. Key Themes in Evolutionary Developmental Biology. Eds. Minelli A., Fusco G. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 2008. P. 144-159.

Schreiber A.M., Das B., Huang H. et al. Diverse developmental programs of *Xenopus laevis* metamorphosis are inhibited by a dominant negative thyroid hormone receptor // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. V. 98. P. 10739–10744.

Schroder T. Cortical expression of polarity in the starfish oocyte // Devel. Growth Differ. 1985. V. 27. P. 311-321.

Schwager E.E., Extavour C.G.M. The molecular machinery of germ line specification // Mol. Reprod. Dev. 2010. V. 77. P 3-18.

Seaver E.C. Segmentation: mono- or polyphyletic? Int. J. Dev. Biol. 2003. V. 47. P. 583–595.

Sebé-Pedrós A., Ariza-Cosano A., Weirauch M.T. et al. Early evolution of the T-box transcription factor family // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2013. V. 110. P. 16050–16055.

Sebé-Pedrós A., de Mendoza A. Transcription factors and the origin of animal multicellularity / Evolutionary Transitions to Multicellular Life. Principles and Mechanisms. Eds. Ruiz-Trillo I., Nedelcu A.M. Dordrecht e a.: Springer Science+Business Media. 2015. P. 379-394.

Sebé-Pedrós A., Roger A.J., Lang F.B. et al. Ancient origin of the integrin-mediated adhesion and signaling machinery // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. V. 107. P. 10142-10147.

Sebé-Pedrós A., Ruiz-Trillo I., de Mendoza A. et al. Unexpected repertoire of metazoan transcription factors in the unicellular holozoan *Capsaspora owczarzaki //* Mol. Biol. Evol. 2011. V. 28. P. 1241-1254.

Seilacher A. Late precambrian Metazoa: Preservational or real extinctions? // Patterns of Change in Earth Evolution. Eds. Holland H.D., Trendall A.F. Berlin: Springer-Verlag. 1984. Pp. 159-168.

Seilacher, A. The nature of vendobionts // The Rise and Fall of the Ediacaran Biota (Geological Society, Special Publication 286). Eds. Vickers-Rich P., Komarower P. London: Geological Society. 2007. P. 387-397.

Seipp S., Schmich J., Leitz T. Apoptosis – a death-inducing mechanism tightly linked with morphogenesis in Hydractina echinata (Cnidaria, Hydrozoa) // Development. 2001. V. 128. P. 4891-4898.

Sempere L. F., Cole C. N., McPeek M. A., Peterson K. J. The phylogenetic distribution of metazoan microRNAs: insights into evolutionary complexity and constraint // J. Exp. Zool. 2006. V. 306B. P. 575-588.

Seo H.C., Edvardsen R.B., Maeland A.D. et al. Hox cluster disintegration with persistent anteroposterior order of expression in *Oikopleura dioica* // Nature. 2004. V. 431. P. 67-71.

Serebrovsky A.S. Genes *scute* and *achaete* in *Drosophila melanogaster* and a hypothesis of gene divergency // C. R. Acad. Sci. URSS. 1938. V. 19. P. 77-81.
Serrelli E., Gontier N., eds. Macroevolution: Explanation, Interpretation and Evidence. Heidelberg, NY., Dordrecht, London: Springer. 2015. 403 pp.
Seto A. G., Kingston R. E., Lau N. C. The coming of age for Piwi proteins // Molec. Cell Res. 2007. V. 26. P. 603–609.
Seydoux G., Braun R.E. Pathway to totipotency: lessons from germ cells // Cell. 2006. V. 127. P. 891-904.
Shapiro B.M., Schackman R.W., Gabel C.A. Molecular approaches to the study of fertilization // Ann. Rev. Biochem. 1981. V. 50. P. 815-843.
Shapiro M.D., Hanken J., Rosenthal N. Developmental basis of evolutionary digit loss in the Australian lizard, Hemiergis // J. Exp. Zool. 2003. V. 297B. P. 48–56.
Sharman A.C., Holland P.W.H. Conservation, duplication, and divergence of developmental genes during chordate evolution // Netherl. J. Zool. 1996. V. 46. P. 47-67.
Sheldrake A.R. A new science of life. The hypothesis of formative causation. London: Blond and Briggs. 1981. 229 p.
Sheth U., Parker R. Decapping and decay of messenger RNA occur in cytoplasmic processing bodies // Science. 2003. V. 300. № 5620. P. 805-808.
Shibata N., Rauhana L., Agata K. Cellular and molecular dissection of pluripotent adult somatic stem cells in planarians // Devel. Growth Differ. 2010. V. 52. P. 27–41.
Shibata N., Umesono Y., Orii H., Sakurai T., Watanabe K., Agata, K. Expression of *vasa (vas)*-related genes in germline cells and totipotent somatic stem cells of planarians // Devel. Biol. 1999. V. 206. P. 73–87.
Shimizu T. Asymmetric segregation and polarized redistribution of the pole plasm during early cleavage in the *Tubifex* embryo: role of actin networks and mitotic apparatus // Devel. Growth Differ. 1989. V. 31. P. 283-297.
Shimizu T. Localization of actin networks during early development of *Tubifex* embryos // Devel. Biol. 1988. V. 125, 321-331.
Shinohara K., Kawasumi A., Takamatsu A. et al. Two rotating cilia in the node cavity are sufficient to break left-right symmetry in the mouse embryo // Nat. Commun. 2012. V. 3. P. 622.
Shiota K. DNA methylation profiles of CpG islands for cellular differentiation and development in mammals // Cytogenet. Genome Res. 2004. V. 105. P. 325-334.
Shiota K., Embryology of the human brain // Donald School J. Ultrasound Obstetr. Gynecol. 2008. V. 2. P. 1-8.
Shippy T.D., Ronshaugen M., Cande J. et al. Analysis of the Tribolium homeotic complex: insights into mechanisms constraining insect Hox clusters // Dev. Genes Evol. 2008. P. 127-139.
Showell C., Binder O., Conlon F.L. T-box genes in early embryogenesis // Devel. Dynam. 2004. V. 229. P. 201-218.
Shubin N., Alberch P. A morphogenetic approach to the origin and basic organisation of the tetrapod limb // Evol. Biol. 1986. V. 20. P. 319–387.
Shubin N., Tabin C., Carroll S. Deeh homology and the origins of evolutionary novelty // Nature. 2009. V.457. P. 818-823.
Shubin N., Tabin C., Carroll S. Fossils, genes and the evolution of animal limbs // Nature. 1997. V. 388. P. 639-648.
Shubin N.H. Evolutionary cut and paste // Nature. 1998. V. 394. P. 12–13.
Shukalyuk A., Golovnina K., Baiborodin S., Gunbin K., Blinov A.G., Isaeva V.V. *vasa*-

related genes and their expression in stem cells of colonial parasitic rhizocephalan barnacle *Polyascus polygenea* (Arthropoda: Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) // Cell Biol. Intern. 2007. V. 31. P. 97-108.

Shukalyuk A., Isaeva V., Kizilova E., Baiborodin S. Stem cells in reproductive strategy of colonial rhizocephalan Ccrustaceans (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) // Inverteb. Reprod. Devel. 2005. V. 48. P. 41-53.

Shukalyuk A.I. Germline commitment in embryonic and induced pluripotent stem cells / The American Society of Cell Biology. 49th Annual Meeting, December 5-9. Annual Meeting Program. ASCB Regular Abstracts. 2009. P. 585.

Shukalyuk A.I., Isaeva V.V. Molecular and sub-cellular gametogenic machinery of stem and germline cells across Metazoa // Current Frontiers and Perspectives in Cell Biology / Ed. Najman S. Rijeka: InTech. 2012. P. 279-314.

Shukalyuk A.I., Isaeva V.V. Molecular signature and sub-cellular machinery of metazoan gametogenic stem cells // Recent Advances in Germ Cells Research / Ed. Perrotte A. Nova Science Publishers Inc. 2013. P. 1-40.

Shukalyuk A.I., Isaeva V.V., Akhmadieva A.V., Alexandrova Y.N. Stem cells in asexually reproducing invertebrates, embryonic stem cells and germline cells share common, evolutionary conserved features / Proceeding of the International Society for Stem Cell Research, 9th Annual Meeting. Abstracts. Toronto, 2011 P. 77.

Shukalyuk A.I., Stanford W.L.. Germ plasm signature in embryonic stem cells / Proceeding of the International Society for Stem Cell Research, 6th Annual Meeting. Philadelphia. 2008. № 238. P. 353.

Shukalyuk A.I., Stanford W.L. Germ plasm signature in embryonic stem cells / Proceeding of the Intern. Soc. Stem Cell Research, 6th Annual Meeting. Philadelphia. 2008. № 238. P. 353.

Sidow A. Gen(om)e duplication in the evolution of early vertebrates // Curr. Opin. Genet. Dev. 1996. V. 6. P. 715-722.

Simpson T.L. The cell biology of sponges. Springer Verlag: Berlin, Heidelberg: NY.: 1984. 662 p.

Singer S.R. An overview of plant development // Gilbert S.F. «Developmental Biology». Eighth Edition. Sunderland: Sinauer Associates, Inc. 2010. P. 627-654.

Sköld H.N., Obst M., Sköld M., Ekesson B. Stem cells in asexual reproduction of marine invertebrates / In: Stem Cells in Marine Organisms. Eds. Rinkevich B., Matranga V. Springer: Dordrecht, Heidelberg, London, NY. 2009. P. 105-137.

Slack F.J., Ruvkun G. Heterochronic genes in development and evolution // Biol. Bull. 1998. V. 195. P. 375-376.

Slack J.M.M. Conrad Hal Waddington: the last Renaissance biologist? // Nature Rev. Genetics. 2002. V. 3. P. 889-695.

Slack J.M.M. We have a morphogen! // Nature. 1987. V. 327. P. 553-554.

Slack J.M.W., Holland P.W.H., Graham C.F. The zootype and the phylotypic stage // Nature. 1993. V. 561. P. 490-492.

Sleutels F., Barlow D.P., Lyle R. The origin of genomic imprinting in mammals // Adv. Genet. 2002. V. 46. P. 119-163.

Slobodkin L.B. The strategy of evolution // Amer. Sci. 1964. V. 52. P. 342-257.

Smith A. Embryonic stem cells / Stem Cell Biology. Marshak D.R. et al. Eds. NY.k: Cold Spring Harbor Lab. Press. 2001. P. 205–230.

Smith A.S.A. Interspersed repeat and other members of transposable elements in mammalian genomes // Curr. Opin. Genet. Dev. 1999. V. 9. P. 657-663.

Smith H.M.S., Boschke I., Hake S. Selective interaction of plant homeodomain proteins mediates high DNA-binding affinity // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2002. V. 99. P. 9579-9584.
Smith K.K. Time's arrow: heterochrony and the evolution of development // Int. J. Dev. Biol. 2003. V. 47. P. 613-621.
Smith C.W., Patton. J.G., Nadal-Ginard B. Alternative splicing in the control of gene expression // Ann. Rev. Genet. 1989. V. 23. P. 527-577.
Smith M.M., Hall B.K. Developmental and evolutionary origins of vertebrate skeletogenic and odontogenic tissues // Biol. Rev. Cambr. Philos. Soc. 1990. V. 65. P. 277-374.
Smith M.R., Ortega-Hernandez J. *Hallucigenia*'s onychophoran-like claws and the case for Tactopoda // Nature. 2014. V. 514. P. 363-366.
Soloaga A., Thomson S., Wiggin G.R. et al. MSK2 and MSK1 mediate the mitogen- and stress-induced phosphorylation of histone H3 and HMG-14 // EMBO J. 2003. V. 22. P. 2788-2797.
Solter D. Mammalian cloning: advances and limitations // Nature Rev. Genet. 2000. V. 1. P. 199-207.
Sommer R.J. Nematoda // Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates. Ed. Wanninger A. V. 3. Wien: Springer. 2015. P. 15-34.
Song L., Wang W. Genomes and evolutionary genomics of animals // Curr. Zool. 2013. V. 59. P. 87–98.
Soppe W.J., Jacobsen S.E., Alonso-Blanco C. et al. The late flowering phenotype of *fwa* mutants is caused by gain-of-function epigenetic alleles of a homeodomain gene // Mol. Cell. 2000. V. 6. P. 791-802.
Sperling E.A. Vinther J. A placozoan affinity for *Dickinsonia* and the evolution of late Proterozoic metazoan feeding modes // Evol. Dev. 2010. V. 12. P. 201–209.
Sperling E.A., Peterson K.J. microRNAs and metazoan phylogeny: Big trees from little genes / Animal Evolution – Genomes, Trees and Fossils. Eds. Telford M.J., Littlewood D.T.J. Oxford: Oxford Univ. Press. 2009. P. 157–70.
Spiegel E., Spiegel M. Cell-cell interactions during sea urchin morphogenesis / Developmental Biology: A Comprehensive Synthesis. Vol. 2. NY., London: Plenum Press. 1986. P. 195-240.
Spiegel M., Spiegel E. The reaggregation of dissociated embryonic sea urchin cells // Amer. Zool. 1975. V. 15. P. 583-606.
Spirov A., Fahmy K., Schneider M. et al. Formation of the *bicoid* morphogen gradient: an mRNA gradient dictates the protein gradient // Development. 2009. V. 136. P. 605-614.
Spitz F. Control of vertebrate Hox cluster by remote and global *cis*-acting regulatory sequences // Hox Genes: Studies from the 20th to the 21st Century. Ed. Deutsch J.S. NY.: Springer Science+Business Media, LLC Landes Bioscience. 2010. P. 63-80.
Spring J. Vertebrate evolution by interspecific hybridization – are we polyploid? // FEBS Letters. 1997. V. 400. P. 2-8.
Srivastava M. A Comparative genomics perspective on the origin of multicellularity and early animal evolution / Evolutionary Transitions to Multicellular Life. Principles and Mechanisms / Eds. Ruiz-Trillo I., Nedelcu A.M. Dordrecht: Springer Science+Business Media. 2015. P. 269-300.
Srivastava M., Begovic E., Chapman J. et al. The *Trichoplax* genome and the nature of placozoans // Nature. 2008. V. 454. P. 955–960.
Srivastava M., Simakov O., Chapman J. et al. The *Amphimedon queenslandica* genome and the volution of animal complexity // Nature 2010. V. 466. P. 720–727.

Srouji J., Extavour C. Redefining stem cells and assembling germ plasm: Key transition in the evolution of the germ plasm. In: Key transition in animal evolution. Eds. DeSalle R., Schierwater B. NY., Abingdon: 2011. P. 360-397.
Stahl Y., Simon R. Plant primary meristems: Shared functions and regulatory mechanisms // Curr. Opin. Plant Biol. 2010. V. 13. P. 53–58.
Stebbins G.L. The role of hybridization in evolution // Proc. Amer. Philos. Soc. 1959. V. 103. P. 166-191.
Stebbins G.L. The significance of hybridization for plant taxonomy and evolution // Taxon. 1969. V. 18. P. 26-35.
Steinmetz P.R., Kraus J.E., Larroux C. et al. Independent evolution of striated muscles in cnidarians and bilaterians // Nature. 2012. V. 487. P. 231–234.
Stitzel M.L., Seydoux G. Regulation of oocyte-to-zygote transition // Science. 2007. V. 316. P. 407-408.
Stolfi A., Brown F.D. Tunicata / Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates. Ed. Wanninger A. V. 6. Wien: Springer. 2015. P. 135-204.
Stone L.S. The role of retinal pigment cells in regenerating neural retinae of adult salamanders eyes // J. Exp. Zool. 1950. V. 113. P. 9-31.
Stoner D.S., Rinkevich B., Weissman I.L. Heritable germ and somatic cell lineage competitions in chimeric colonial protochordates // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V. 96. P. 9148–9153.
Stoner D.S., Weissman I.L. Somatic and germ cell parasitism in a colonial ascidian: Possible role for a highly polymorphic allorecognition system // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 15254-15259.
Strahl B.D., Allis C.D. The language of covalent histone modification // Nature. 2000. V. 403. P. 41-45.
Strassmann, J.E., Queller, D.C. Evolution of cooperation and control of cheating in a social microbe / The Social Biology of Microbial Communities. Eds Olsen L.A., Choffnes E.R., Mack A. Washington: Nat. Acad. Press. 2012. P. 509-533.
Strathmann M.F., Strathmann R.R. An extraordinarily long larval duration of 4.5 years from hatching to Metamorphosis for Teleplanic Veligers of *Fusitriton oregonensis* // Biol. Bull. 2007. V. 213. P. 152-159.
Strome S., Lehman R. Germ versus soma decisions: Lessons from flies and worms // Science. 2007. V. 316. P. 392-393.
Styhler S., Nakamura A., Lasko P. VASA localization requires the SPRY-domain and SOCS-box containing protein, GUSTAVUS // Devel. Biol. 2002. V. 3. P. 865-876.
Su Y.H., Zhang X.S. Auxin gradients trigger de novo formation of stem cells during somatic embryogenesis // Plant Signal Behav. 2009. V. 4. P. 574–576.
Suga H., Chen Z., de Mendoza A. et al. The *Capsaspora* genome reveals a complex unicellular prehistory of animals// Nat. Commun. 2013. V. 4. P. 2325.
Sulston J. E., Horvitz H. R. Postembryonic cell lineages of the nematode *Caenorhabditis elegans* // Devel. Biol. 1977. V. 56. P. 110–156.
Sulston J.E., Schierenberg E., White J.G. et al. The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans* // Devel. Biol. 1983. V. 100(1). P. 64-119.
Sunanaga T., Watanab A. Kawamura K. Involvement of *vas*a homolog in germline recruitment from coelomic stem cells in budding tunicates // Dev. Genes Evol. 2007. V. 217. P. 1–11.
Surani M.A.H. Imprinting and the initiation of gene silencing in the germ lane // Cell. 1998. V. 93. P. 309-312.

Suzuki M., Bird A. DNA methylation landscapes: Provocative insights from epigenomics // Nature Rev. Genet. 2008. V. 9. P. 465-476.
Swalla B. Building divergent body plans with similar genetic pathways // Heredity. 2006. V. 97. P. 235–243.
Swalla B.J., Jeffery W.R. Requirement of the *Manx* gene for expression of chordate features in a tailless ascidian larva // Science. 1996. V. 274. P. 1205-1208.
Tabara H., Sarkissian M. Kelly W.G. et al. The *rde-1* gene, RNA interference, and transposon silencing in *C. elegans* // Cell. 1999. V. 99. P. 123-132.
Tabin C.J., Carroll S.B., Panganiban G. Out on a limb: parallels in vertebrate and invertebrate limb patterning and the origin of appendages // Am. Zool. 1999. V. 39. P. 650-663.
Tagahashi K., Tanabe K., Ohnuki M. et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors // Cell. 2007. V. 131. № 5. P. 861-872.
Taiz L., Zeiger E. Plant Physiology. Third Edition. Sunderland: Sinauer Assoc. 2003. 690 p.
Takahashi K., Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors // Cell. 2006. V. 126. № 4. P. 663-676.
Takikawa S., Wang X., Ray C. et al. Human and mouse ZFP57 proteins are functionally interchangeable in maintaining genomic imprinting at multiple imprinted regions in mouse ES cells // Epigenetics. 2013. V. 8. № 12. P. 1268-1279.
Takano-Ohmuro H., Obinata T., Masaki T. et al. Changes in myosin isozymes during development of chicken breast muscle // J. Biochem. 1982. V. 91. P. 11305-11309.
Tamaru H., Selker E.U. A histone H3 methyltransferase controls DNA methylation in *Neurospora crassa* // Nature. 2001. V. 414. P. 277-283.
Tamura M., Dan-Sohkawa M.. Kaneko H. Coelomic pouch formation in reconstructing embryos of the starfish Asterina pectinifera // Devel. Growth Differ. 1998. V. 40. P. 567-575.
Tan Q. K.-G., Irish V.F. The *Arabidopsis* zinc finger-homeodomain genes encode proteins with unique biochemical properties that are coordinately expressed during floral development // Plant Physiol. 2006. V. 140. P. 1095-1108.
Taneri B., Snyder B., Novoradovsky A., Gaasterland T. Alternative splicing of mouse transcription factors affects their DNA-binding domain architecture and is tissue specific // Genome Biol. 2004. V. 5. P. R75.1- R75.9.
Tarchini B, Duboule D. Control of HoxD genes collinearity during early limb development // Devel. Cell. 2006. V. 10. P. 93–103.
Tarig M., Saze H., Prost A.V. et. al. Erasure of CpG methylation in *Arabidopsis* alters patterns of gistone H3 methylation in heterochromatin // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. P. 8823-8827.
Taylor J.S., Van de Peer Y., Braasch I. et al. Comparative genomics provides evidence for an ancient genome duplication event in fish // Philos. Nrans. R. Soc. Land. B. Biol. Sci. 2001. V. 356. P. 1661-1679.
Taylor J.S., Brasch I., Frickey T. et al. Genome duplication, a trait shared be 22.000 species of ray-finned fish // Genome Res. 2003. V. 13. P. 382-390.
Taylor W.R. A «periodic table» for protein structures // Nature. 2002. V. 416. P. 657-660.
Technau U. The sea anemone *Nematostella vectensis* as a model system for the study of the evolutionary origin of triploblasty and bilaterality // Palaeodiversity. 2010. V. 3. P. 155-157.
Technau U., Genikhovich G., Kraus J.E.M. / Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates. Ed. Wanninger A. Wien: Springer. 2015. V. 1. P. 115-163.

Telford M.J., Bourlat S.J., Economou A. et al. The evolution of the Ecdysozoa // Phil. Trans. R. Soc. B. 2008. V. 363. P. 1529–1537.
Ter-Avanesyan M.D., Kushnirov V.V., Dagkesamanskaya A.R. et al. Deletion analysis of the SUP35 gene of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* reveals two nonoverlapping functional regions in the encoded protein // Mol. Microbiol. 1993. V. 7. P. 683-692.
Thaller C., Eichele G. Identification and spatial distribution of retinoids in the developing chick limb bud // Nature. 1987. V. 327. P. 625-628.
Theißen G. Saltational evolution: hopeful monsters are here to stay // Theory Biosci. 2009. V. 128. P. 43–51.
Theissen G., Becker A., Di Rosa A. et al. A short history of MADS-box genes in plants // Plant Molec. Biol. 2000. V. 42. P. 115–149.
Thewissen J.G.M., Cohn M.J., Stevens L.S. et al. Developmental basis for hind-limb loss in dolphins and origin of the cetacean body plan // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. V. 103. P. 8414–8418.
Thomas M.B., Edwards N.C. Cnidaria: Hydrozoa / Microscopic Anatomy of Invertebrates. V. 2: Placozoa, Porifera, Cnidaria, and Ctenophora. Harrison F.W., Westfall J.A. Eds. NY.: Wiley-Liss. 1991. P. 91–183.
Thomas-Chollier M., Ledent V., Leyns L., Vervoort M. A non-tree-based comprehensive study of metazoan Hox and ParaHox genes prompts new insight into their origin and evolution // BMC Evol. Biol. 2010. V. 10. P. 73.
Thompson d’Arcy W. On Growth and Form. Cambridge: Cambridge Universituy Press. 1942. 1116 p.
Thorne A.W., Sautiere P. Briand G. et al. The structure of ubiquitinated histine H2B // EMBO J. 1987. V. 6. P. 1005-1010.
Toledo A., Cruz C., Fragoso G., Laclette J.P., Merchant M.T., Hernandez M., Sciutto E. *In vitro* culture of *Taenia crassiceps* larval cells and cyst regeneration after injection into mice // J. Parasitol. 1997. V. 83. P. 189–193.
Tomari Y., Du T., Haley B. et al. RISC assembly defects in the *Drosophila* RNAi mutant *armitage* // Cell. 2004. V. 116. № 6. P. 831-841.
Tononi G., Edelman G.M. Consciousness and complexity // Science. 1998. V. 282. P. 1846-1850.
Toyooka Y., Tsunekawa N., Akasu R., Noce N. Embryonic stem cells can form germ cells in vitro // The Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 2003. V. 100. P. 11457–11462.
Trainor P.A., Melton K.R., Manzanares M. Origins and plasticity of neural crest cells and their roles in jaw and craniofacial evolution // Int. J. Dev. Biol. 2003. V. 47. P. 541–553.
Travis, J. A close look at urbisexuality. Science 2007. V. 316. P. 390-391.
Trinkaus J.P. The midblastula transition, the YSL transition and the onset of gastrulation in Fundulus // Development. 1992. Suppl. P. 75-80.
Tschopp P., Duboule D. A Genetic approach to the transcriptional regulation of Hox gene clusters // Ann. Rev. Genet. 2011. V. 45. P. 145–66.
Tuite M.F., Mundy C.R., Cox B.S. Agents that cause a high frequency of genetic change from [psi^+] to [psi^-] in *Saccharomyces cerevisiae* // Genetics. 1981. V. 98. P. 691-711.
Turing A.M. On the chemical basis of morphogenesis // Phil. Trans. Roy. Soc. L., Ser. B. 1952. V. 237. P. 37-72.
Turner B.M. Cellular memory and the histone code // Cell. 2002. V. 111. P. 285-291.

Ueda M., Zhang Z., Laux T. Transcriptional activation of *Arabidopsis* axis patterning genes WOX8/9 links zygote polarity to embryo development // Devel. Cell. 2011. V. 20. P. 264-270.
Umulis D.M., Othmer H.G. Mechanisms of scaling in pattern formation // Development. 2013. V. 140. P. 4830-4843.
Vacquer V.D. Dynamic changes of the egg cortex // Dev. Biol. 1981. V. 84. P. 1–26.
Vagin V.V., Klenov M.S., Kalmykova A.I. et al. The RNA interference proteins and *Vasa* locus are involved in the silencing of retrotransposons in the female germline of *Drosophila melanogaster* // RNA Biol. 2004. V. 1. P. 54-58.
Vagin V.V., Sidova A., Li C. et al. A distinct small RNA pathway silences selfish genetic elements in the germline // Science. 2006. V. 313. № 5785. P. 320-324.
Valentine J.W. Cleavage patterns and the topology of the Metazoan tree of life // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. P. 8001-8005.
Valentine J.W., Hamilton H. Body plan, phyla and arthropods / Arthropod Relationships. Systematics Association Special Volume, series 55. Eds. Fortey R.A., Thomas R.H. London: Chapman & Hall. 1997. P. 1-9.
Vanyushin B.F. Replicative DNA methylation in animals and higher plants // Current Topics Microbiol. Immunol. 1984. V. 108. P. 99-114.
Vanyushin B.F., Nemirsky L.E., Klemenko V.V. et al. The 5-methylcytosine in DNA of rats. Tissue and age specifity and the changes induced be hydrocortisone and other agents // Gerontologia. 1973. V. 19. P. 138-152.
Vanyushin B.F., Tkacheva S.G., Belozersky A.N. Rare bases in animal DNA // Nature. 1970. V. 225. P. 948-949.
Varela-Lasheras I., Bakker A.J., van der Mije S.D. et al. Breaking evolutionary and pleiotropic constraints in mammals: On sloths, manatees and homeotic mutations // EvoDevo. 2011. V. 2. P. 11.
Vasudevan S., Seli E., Steitz J.A. Metazoan oocyte and early embryo development program: a progression through translation regulatory cascades // Genes Dev. 2006. V. 20. P. 138-146.
Venter J.C., Adams M.D., Myers E.W. et al. The sequence of the human genome // Science. 2001. V. 291. P. 1304-1351.
Verdeil J.-L., Alemanno L., Niemenak N., Trabarger T.J. Pluripotent versus totipotent plant stem cells: Dependence versus autonomy? // Trends in Plant Science. 2007. V. 12. P. 245-252.
Verdonk N.H., van den Biggelaar J.A.M. 1983. Early development and the formation of the germ layers / In: The Mollusca. V. 3. Development. Eds. Verdonk N.H., van den Biggelaar J.A.M., Tompa A.S. NY.: Acad. Press. P. 91–122.
Vickery M.S., McClintock J.B. Effects of food concentration and availability on the incidence of cloning in planktotrophic larvae of the sea star *Pisaster ochraceus* // Biol. Bull. 2000. V. 199. P. 298-304.
Vierbuchen T., Ostermeier A., Pang Z.P. et al. // Nature. 2010. V. 463. № 7284. P. 1035-1041.
Vollmer S.V., Palumbi S.R. Hybridization and the evolution of reef coral diversity // Science. 2002. V. 296. P. 2023-2025.
Voronezhskaya E.E., Tsitrin E.B., Nezlin L.P. Neuronal development in larval polychaete *Phyllodoce maculata* (Phyllodocidae) // J. Comp. Neurol. 2003. V. 455. P. 299-309.
Voronezhskaya E.E., Khabarova M.Yu., Nezlin L.P. Apical sensory neurones mediate developmental retardation induced by conspecific environmental stimuli in freshwater pulmonate snails // Development. 2004. V. 131. P. 3671–3680.

Voronina E., Lopez M., Juliano C.E. et al. Vasa protein expression is restricted to the small micromeres of the sea urchin, but is inducible in other lineages early in development // Devel. Biol. 2008. V. 314. P. 276-286.
Vrba E.S. Ecology, development, and evolution: perspectives from the fossil record / Environment, Development, and Evolution. Eds. Hall B.K., Pearson B.J., Müller G.B. Cambridge: MIT Press. 2003. P. 85–105.
Wada H, Satoh N: Patterning the protochordate neural tube // Curr. Opin. Neurobiol. 2001. V. 11. P. 16–21.
Wada H., Garcia-Fernandez J., Holland P.W.H. Colinearity and segmental expression of amphioxus *Hox* genes // Dev. Biol. 1999. V. 213. P. 131-141.
Waddington C.H. Morphogenetic fields // Sci. Progress. 1934. V. 29. P. 336-346.
Waddington C.H. Organisers and Genes. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 1940.
Waddington K. Canalization of development and the inheritance of acquired character // Nature. 1942. V. 50. P. 563-565.
Waddington C.H. The Strategy of the Genes / A Discussion on Some Aspects of Theoretical Biology. London: George Allen & Unwin. 1957. 262 p.
Waddington C.H. Fields and gradients / Major Problems in Developmental Biology / Locke M. Ed. NY.: Acad. Press. 1966. P. 105-124.
Waddington C.H. A catastrophe theory of evolution // Annals New York Acad. Sci. 1974. V. 231. P. 32-42.
Waddington C. The evolution of an evolutionist. Ithaca, NY.: Cornell Univ. Press. 1975. 328 p.
Waddington C.H., Ed. Edinburgh: Edinburgh Univ. Press. 1968. P. 1–32.
Wagner A.J., Weissman I.L. Plasticity of adult stem cells // Cell. 2004. V. 116. P. 639-48.
Wagner D.E., Wang I.E., Reddien P.W. Clonogenic neoblasts are pluripotent adult stem cells that underlie planarian regeneration // Science. 2011. V. 332. P. 811-816.
Wagner G.P. Homology in the age of developmental genomics / Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates. Ed. Wanninger A. Wien: Springer. 2015. V. 1. P. 25-44.
Wagner G.P., Mezey J., Calabretta R. Natural selection and the origin of modules In / Modularity: Understanding the Development and Evolution of Natural Complex Systems. Eds. Callebaut W., Rasskin-Gutman D. The Vienna Series in Theoretical Biology. London: The MIT Press. 2005. P. 33-50.
Wainwright P.C. Innovation and diversity in functional morphology / In: Form and Function in Developmental Evolution. Eds. Laubichler M.D., Maienschein J. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 2009. P. 132-152.
Waliszewski P., Konarski J. Neuronal differentiation and synapse formation occur in space and time with fractal dimension // Synapse. 2002. V. 43. P. 252-258.
Wallrath L.L. Unfolding the mysteries of heterochromatin // Curr. Opin. Genet. Devel. 1998. V. 8. P. 147-153.
Walossek D. The upper cambrian *Rehbachiella* and the phylogeny of Branchiopoda and Crustacea. Fossils and Strata. 1993. V. 32. P. 1–202.
Waloszek D. Cambrian 'Orster'-type preserved arthropods and the phylogeny of Crustacea / The new panorama of animal evolution. Eds. Legakis A., Sfenthourakis S., Polymeni R., Thessalou-Legaki M. Sofia. Moscow: Pensoft Publ., 2003. P. 69-87.
Wang Y., Gu X. Functional divergence in the caspase gene family and altered functional constrains: statistical analysis and prediction // Genomics. 2001. V. 158. P. 1311-1320.

Wang D., Kennedy S., Conte D.,Jr. et al. Somatic misexpression germine P granules and enhanced RNA interference in retinoblastoma pathway mutants // Nature. 2005. V. 436. № 7050. P. 593-597.
Wang E.T., Sandberg R., Luo S. et al. Alternative isoform regulation in human tissue transcriptomes // Nature. 2008. V. 456. P. 470-476.
Wang H., Wang L., Erdjument-Bromage H. et al. Role of histone H2A ubiquination in Polycomb silencing // Nature. 2004. V. 431. P. 873-878.
Wang W., Yu H., Long M. Duplication-degeneration as a mechanism of gene fission and the origin of new genes in Drosophila species // Nat. Genet. 2004. V. 36. P. 523-527.
Wanninger A. Twenty years into the "new animal phylogeny": Changes and challenges // Org. Divers. Evol. 2016. V. 16. P. 315-318.
Wanninger A., Wollesen T. Mollusca // Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates / Ed. Wanninger A. Wien: Springer. 2015. V. 2. P. 103-153.
Warburton D., Schwarz M., Tefft D. et al. 2000. The molecular basis of lung morphogenesis // Mech. Devel. V. 92. P. 55-81.
Warga R.M., Kimmel C.B. Cell movements during epiboly and gastrulation in zebrafish // Development. 1990. V. 108. P. 569-580.
Wassenaar T.M. Bacteria: The Benign, the Bad, and the Beautiful. Hoboken. Wiley-Blackwell. 2012.
Watanabe H., Hoang V.T., Mдttner R., Holstein T.W. Immortality and the base of multicellular life: Lessons from chidarian stem cells // Semin. Cell Devel. Biol. 2009. V. 20. P. 1114-1125.
Weaver C., Kimelman D. Move it or lose it: axis specification in Xenopus // Development. 2004. V. 131. P. 3491-3499.
Weaver I.C., Champagne F.A., Brown S.E. et al. Reversal of maternal programming a stress responses in adult offspring through methyl supplementation: altering epigenetic marking later in life // J. Neurosci. 2005. V. 25. P. 11045-11054.
Weber J.N., Peterson B.K., Hoekstra H.E. Discrete genetic modules are responsible for complex burrow evolution in Peromyscus mice // Nature. 2013. V. 493. P. 402-405.
Weeds A.G., Lowey S. Structure of myosin molecule. II. The light chain of myosin // J. Mol. Biol. 1971. V. 61. P. 701-725.
Weibel E.R. Fractal geometry – a design principle for living organisms // Amer. J. Physiol. 1991. V. 261 P. 361-369.
Weinberg E.S., Allende M.L., Kelly C.S. et al. Developmental regulation of zebrafish MyoD in wild-type, no tail and spa-detail // Development. 1996. V. 122. P. 271-280.
Weinhold B. Epigenetics: the science of change // Environ. Health Perspect. 2006. V. 114. P. a160-a167.
Weismann A. Das Keimplasma. Eine Theorie der Vererbung. Jena: Verlag von Gustav Fisher. 1892. 682 S.
Weismann A. Die Entstehung der Sexualzellen bei den Hydromedusen: Zugleich ein Beitrag zur Kenntniss des Baues und der Lebenserscheinungen dieser Gruppe. Jena: Fischer. 1883. 295 S.
Weismann A. The Germ Plasm. A Theory of Heredity. NY.: Charles Scriber's Sons. 1893. 468 p.
Weiss P. Cell contact // Intern. Rev. Cytol. 1958. V. 7. P. 391-423.
Weissman I.L., Anderson D.J., Gage F. Stem and progenitor cells: Origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations // Ann. Rev. Cell Devel. Biol. 2001. V. 17. P. 387–403.

Weissman I.L. Stem cells: Units of development, units of regeneration, and units in evolution // Cell. 2000. V. 100. P. 157-168.
Whalen R.G., Butler-Browne G.S., Gros F. Identification of a novel form of myosin light chain present in embryonic muscle tissue and cultured muscle cells // J. Mol.Biol. 1978. V. 126. P. 415-431.
Whalen R.G., Sell S.M., Butler-Browne G.S. et al. Three myosin heavy chain isoenzymes appear sequentially in rat muscle development // Nature. 1981. V. 292. P. 805-809.
Wheeler B.M., Heimberg A.M., Moy V.N. et al. The deep evolution of metazoan microRNAs // Evol. Devel. 2009. V. 11. P. 50-68.
White J.G., Southgate E., Thomson J.N., Brenner S. The structure of the nervous system of the nematode *C. elegans //* Philos. Trans. Royal Soc. London. 1985. V. 314. P. 1-340.
Wickner R.B., Masison D.C., Edskes H.K. [PSI] and [URE3] as yeast prions // Yeast. 1995. V.11. p. 1671-1685.
Wilbur H.M. Complex life cycles // Ann. Rev. Ecol. Syst. 1980. V. 11. P. 67-93.
Wilkins A.S. The evolution of developmental pathways. Sunderland: Sinauer. 2002. 603 p.
Williams J.A., Paddock S.W., Vorwerk K. Organization of wing formation and induction of a wingpattering gene at the dorsal-ventral comhfrtment boundary // Nature. 1994. V. 368. P. 299-305.
Willemsen V., Scheres B. Mechanisms of pattern formation in plant embryogenesis // Ann. Rev. Genet. 2004. V. 38. P. 587–614.
Williams G.C. Natural Selection: Domains, Levels, and Challenges. NY., Oxford: Oxford Univ. Press. 1992. 206 p.
Wilson E. The cell in development and heredity. NY.: MacMillan. 1925. 1962 p.
Wilson H.W. On some phenomena of coalescence and regeneration in sponges // J. Exp. Zool. 1907. V. 5. P. 250-252.
Wilson V.L., Smith R.A., Ma S. et al. // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. P. 9948-9951.
Wimsatt W.C. Echoes of Haeckel? Reentrenching development in evolution / From Embryology to Evo-Devo: A History of Develomental Evolution. Eds. Laubichler M.D., Maienschein J. Cambridge. London: The MIT Press. 2007. P. 309-355.
Winter R.G. August Weismann on germ-plasm variation // J. Hist. Biol. 2001.V. 34. P. 517–555.
Winther R.G. Evolutionary developmental biology meets levels of selection: Modular integration or competition, or both? / In: Modularity: Understanding the Development and Evolution of Natural Complex Systems. Eds. Callebaut W., Rasskin-Gutman D. The Vienna Series in Theoretical Biology. London: The MIT Press. 2005. P. 61-90.
Wojtowicz W.M., Flanagan J.J., Millard S.S. et al. Alternative splicing of Drosophila Dscam generates axon guidance receptors that exhibit isoform-specific homophilic binding // Cell. 2004. V. 118. P. 619-633.
Wolf J.B., Hager A. Maternal-offspring coadaptation theory for evolution of genomic imprinting // PLoS Biology. 2006. V. 4 (12). e380.
Wolff G., Gerberding M. “Crustacea”: Comparative aspects of early development / Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates. Ed. Wanninger A. Vol. 4. Wien e a.: Springer. 2015. P. 39-61.
Wolpert L. Positional information and pattern formation / Molecular determinants of animal form. NY.: Liss. 1985. P. 423-433.
Wolpert L. Positional information and pattern formation // Phil. Trans. Roy. Soc. L., B. 1981. V. 295. P. 441-450.

Wolpert L. Positional information and the spatial pattern of cellular differentiation // J. Theor. Biol. 1969. V. 25. P. 1-47.
Wolpert L. Positional information revisited // Development. 1989. V. 107. (Suppl.). P. 3-12.
Wolpert L., Hornbruch A. Double anterior chick limb buds and models for cartilage rudiment specification // Development. 1990. V. 109. P. 961-966.
Wolpert L., Hornbruch A. Positional signalling along the antero-posterior axis of the chick wing. The effect of multiple polarizing region grafts // J. Emb. Exp. Morphol. 1981. V. 63. P. 143-159.
Wray G. A., Levinton J.S., Shapiro L.H. 1996. Precambrian divergences among metazoan phylam // Science. V. 274. P. 568-573.
Wray G.A. Transcriptional regulation and the evolution of development // Int. J. Dev. Biol. 2003. V. 47. P. 675-684.
Wray G.A., Abouhelf E. When in homology not homology // Curr. Opin. Genet. Devel. 1998. V. 8. P. 675-680.
Wray G.A., Raff R.A. Evolutionary modification of cell lineage in the direct-developing sea urchin *Heliocidaris erythrogramma* // Devel. Biol. 1989. V. 132. P. 458–470.
Wu H.-R., Chen Y.-T., Su Y.-H. et al. Asymmetric localization of germline markers Vasa and Nanos during early development in the amphioxus *Branchiostoma floridae* // Devel. Biol. 2011. V. 353. P. 147–159.
Wu-Scharf D., Jeong B., Zhang C. et al. Transgene and transposon silencing in *Chlamidomonas reihardtii* by DEATH-Box RNA helicase // Science. 2000. V. 290. P. 1159-1163.
Wutz A., Rasmussen T.P., Jaenisch R. Chromosomal silencing and localization are mediated by different domains of *Xist* RNA // Nat. Genet. 2002. V. 30. № 2. P. 167-174.
Xiao S.-H., Knoll A.H. Phosphatized animal embryos from the Neoproterozoic Doushantuo Formation at Weng'an, Guizhou, South China // J. Paleontol. 2000. V. 74. P. 767-788.
Yadav R.K., Perales M., Gruel J. et al. WUSCHEL protein movement mediates stem cell homeostasis in the *Arabidopsis* shoot apex // Genes Dev. 2011. V. 25. P. 2025-2030.
Yagi S., Hirabayashi K., Sato S. et al. DNA methylation profile of tissue-dependent and differentially methylated regions (T-DMRs) in mouse promoter regions demonstrating tissue-specific gene expression // Genome Res. 2008. V. 18. P. 1969-1978.
Yakubov E., Rechavi G., Rosenblatt S. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2010. V. 394. № 1. P. 189-193.
Yamada L., Kobayashi K., Degan B. et al. A genomicwide survey of developmentally relevant genes in Ciona intestinalis // Dev. Genes Evol. 2003. V. 213. P. 245-253.
Ye Y., De Leon J., Yokoyama N. et al. DBR1 siRNA inhibition of HIV–1 replication // Retrovirology. 2005. V. 18. P. 2-63.
Yekta S., Tabin C.J., Bartel D.P. MicroRNAs as in the Hox nerwork: an apparent link to posterior prevalence // Nature Review Genetics. 2009. V. 9. P. 789-796.
Yi B., Bumbarger D., Sommer R. J. Genetic evidence for pax-3 function in myogenesis in the nematode Pristionchus pacificus // Evolution & Development. 2009. V.11. P. 669-679.
Yin C, Bengtson S, Zhao Y. Silicified and phosphatized *Tianzhushania* , spheroidal microfossils of possible animal origin from the Neoproterozoic of South China // Acta Palaeontol Pol. 2004. V. 49. P. 1-12.
Yoder J.A., Walsh C.P., Bestor T.H. Cytosine methylation and the ecology of intragenic parasites // Trends. Genet. 1997. V. 13. P. 335-340.
Yokoyama S., Yokoyama R. Molecular evolution of human visual pigment genes // Mol. Biol. Evol. 1989. V. 6. P. 187-197.

Yu W.P., Brenner S., Venkatesh B. Duplication, degeneration and subfunctionalization of nested *synapsin-Timp* genes in *Fugu* // Trends Gen. 2003. V. 19. № 4. P. 180-183.
Yu N.K., Baek S.H., Kaang B.K. DNA methylation-mediated control of learning and memory // Mol. Brain. 2011. V. 4. P. 1-9.
Zakany J., Duboule D. The role of Hox genes during vertebrate limb development // Curr. Opin.Genet. Devel. 2007. V. 17. P. 359–366.
Zakhartsev M., Lucassen M., Smirnova Y., Zinov’eva R.D., Mugue N., Pörtner H.O., Ozernyuk N.D. Differential expression of duplicated LDH-A genes during temperature acclimation of weatherfish *Misgurnus fossilis*. Functional consequences for enzymes // FEBS J. 2007. V. 274. P. 1503-1513.
Zeng L., Zhou M. Bromodomain: an acetyl-lysine binding // FEBS Letters. 2002. V. 513. P. 124-128.
Zhang J. Evolution by gene duplication: an update // Trends in Ecol. Evol. 2003. V. 28. № 6. P. 292-298.
Zhang J. et al. Adaptive evolution of a duplicated pancreatic ribonuclease gene in a leaf-eating monkey // Nat. Genet. 2002. V. 30. P. 411-415.
Zhang P., Gu Z., Li W.H. Different evolutionary patterns between young duplicate genes in the human genome // Genome Biol. 2003. V. 4. P. R56.
Zhenning H., Russel J.R. Expression, purification, and characterization of human hemoglobins Gower-1, Gower-2, and Portland-2 assembled in complex transgenic-knockout mice // Blood. 2001. V.97. P. 1099-1105.
Zhou H., Wu S., Joo J.Y. et al. // Sell Stem Cell. 2009. V. 4. № 5. P. 381-384.
Zhou Q. Brown J., Kanarek A. et al. // Nature. 2008. V. 455. № 7213. P. 627-632.
Zhu S., Li W., Zhou H. et al. Reprogramming of human s cells by OCT4 and chemical compounds // Cell Stem Cell. 2010. V. 7. P. 651-655.
Zipursky. Drosophila Dscam is an axon guidance receptor exhibiting extraordinary molecular diversity // Cell. 2000. V. 101. P. 671-684.
Zuckerkandle E., Pauling L. Evolutionary divergence and convergence in proteins / In: Evolving Genes and Proteins. Eds. Bryson V., Vogel H.J. NY.: Acad. Press. 1965. P. 97-166.
Zuckerkandl E. Why so many noncoding nucleotides? The eukaryote genome as an epigenetic machine // Genetica. 2002. V. 115. N. 1(Eds.). P. 105-129.
Zwaka T.P., Thomson J.A. A germ cell origin of embryonic stem cells? // Development. 2005. V. 132. P. 227-233.

Содержание

CONTENTS

Научное издание

Николай Дмитриевич ОЗЕРНЮК
Валерия Васильевна ИСАЕВА

ЭВОЛЮЦИЯ ОНТОГЕНЕЗА

Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2016. 407 с.

Отпечатано в типографии “Галлея-Принт”
Объем 25,18 уч.изд.л. Тираж 150.
Цифровая копия подготовлена Каретиным Ю.А.
yura15cbx@gmail.com